



POLITÉCNICO DE COIMBRA
ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA

Micael Renato Vidal Silva

Nº 21729011

**O Papel da Agricultura Biológica na Economia Circular:
Potencial Biocida de Subprodutos de Origem Vegetal**

Orientadora: Professora Doutora Cristina Isabel Cabral Galhano

Coorientadora: Doutora Maria Clara Vieira dos Santos



POLITÉCNICO DE COIMBRA
ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA

Micael Renato Vidal Silva
Nº 21729011

**O Papel da Agricultura Biológica na Economia Circular:
Potencial Biocida de Subprodutos de Origem Vegetal**

Orientadora: Professora Doutora Cristina Isabel Cabral Galhano
Coorientadora: Doutora Maria Clara Vieira dos Santos

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de **Mestre em Agricultura Biológica**.

TERMO DE RESPONSABILIDADE

Declaro ser o autor desta dissertação, que constitui um trabalho original e inédito, que nunca foi submetido a outra Instituição de Ensino Superior para obtenção de um grau acadêmico ou outra habilitação. Atesto ainda que todas as citações estão devidamente identificadas e que tenho consciência de que o plágio constitui uma grave falta de ética, que poderá resultar na anulação do presente trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra, em especial aos docentes que lecionaram no Mestrado em Agricultura Biológica na edição 2017/2019, pelos conhecimentos transmitidos;

À Professora Doutora Cristina Isabel Cabral Galhano, minha orientadora, pelo incentivo em ingressar neste mestrado, pelo acompanhamento ao longo do percurso académico no Ensino Superior e pelo apoio dado nesta dissertação. Ainda a minha gratidão pela confiança, pelo pronto aconselhamento, pelos ensinamentos e pela motivação;

À Doutora Maria Clara Vieira dos Santos do Centro de Biologia Molecular e Ambiental da Universidade do Minho, minha coorientadora, pela disponibilidade e colaboração neste trabalho.;

À Doutora Sofia Costa do Centro de Biologia Molecular e Ambiental da Universidade do Minho pela disponibilização da população de nemátodes;

À Doutora Paula Lorenzo pela colaboração nos ensaios de germinação e pelos prontos conselhos que disponibilizou e conhecimentos que transmitiu;

À colega Beatriz Santos pelo companheirismo no laboratório e nos trabalhos de campo;

Aos técnicos do Núcleo de Ensino, Sr. Fernando, D^a. Helena e D^a. Rosa, pela prontidão às solicitações de material laboratorial;

À D^a. Olga, pelo carinho que tem ao cozinhar, no regime pós-laboral, para os alunos dos mestrados da ESAC;

A minha gratidão à Patrícia Simões pelo companheirismo, dedicação e profissionalismo em todos os trabalhos de grupo das unidades curriculares do mestrado.

Aos meus colegas de curso da edição 2017/2019, Ana Nascimento, André Ferreira, Bernardo Santos, João Cunha, João Pinto, Neide Ribeiro, Raquel Vieira e Walter Sandes pelo companheirismo. Também a minha gratidão aos colegas do Mestrado em Agricultura Biológica das edições precedentes e posteriores.

O meu agradecimento a todos os colegas, com quem me cruzei no Ensino Superior dos diversos cursos, ao longo de todo o meu percurso académico na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra.

Ainda, e não menos importante, um agradecimento especial os meus pais, M^a Isabel O. Vidal e Rui M. R. Silva, pelo incentivo, apoio e amor incondicional;

Aos meus irmãos, Bruno E. V. Silva e Beatriz N. V. Silva pelo companheirismo ao longo de todo o meu percurso;

À minha avó materna, M^a Fernanda R. Oliveira e ao meu avô materno Joaquim O. M. Vidal que em cada momento tem a palavra certa;

Aos meus avós paternos, *in memoriam*, António P. da Silva e Neide S. Ribeiro;

À minha madrinha de baptismo, Lúcia M^a. A. Vidal, pela preocupação e apoio, ao longo da minha vida e neste Mestrado em particular e ao meu padrinho de baptismo, *in memoriam*, Arcindo Sousa;

À Liliana S. Resende, pelo companheirismo, afeto, paciência e compreensão;

Aos meus amigos de infância, Doutor Emanuel Fernandes, Mestre Marco Oliveira e Sofia da Silveira Henriques pela sincera amizade;

Às professoras primárias Leonilde Rasga, Maria Augusta e Ericina Duque;

Ao chefe Miguel Oliveira;

A todos quantos fizeram, direta ou indiretamente, parte da minha formação académica e pessoal estou grato;

A Deus que é alfa e ómega.

“Chegamos? Não chegamos?

Haja ou não haja frutos,
pelo sonho é que vamos.”

Sebastião da Gama

RESUMO

Agricultura Biológica é um modelo capaz de dar resposta a um desenvolvimento sustentável e a economia circular uma oportunidade para uma maior eficiência e gestão de recursos naturais. Dois problemas agronómicos de relevo são os nemátodes das galhas radiculares e as plantas espontâneas. A casca de fava é um subproduto da indústria agroalimentar que poderá ser tido em consideração para o combate destes. Neste estudo foram realizados ensaios, *in vitro*, para testar os efeitos de extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada na mortalidade de jovens do segundo estágio de *Meloidogyne incognita* bem como de extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada e de hidrolatos na germinação e desenvolvimento de plantas de *Solanum lycopersicum*, *Rumex crispus* e *Cyperus rotundus*.

Os resultados obtidos indicam que o extrato de fava a 10% é o melhor potencial nematicida. No ensaio com hidrolatos, para testar a inibição de sementes de *Rumex crispus*, os de *Rosmarinus officinalis* e *Salvia canariensis* apresentaram melhor efeito inibidor da germinação e no ensaio em *Cyperus rotundus* verifica-se o potencial promotor de *Melaleuca alternifolia*, *Saponaria officinalis* e *Solanum mauritianum*.

Os efeitos obtidos devem ser tidos em conta numa visão mais sustentável no controlo de inimigos das culturas agrícolas.

Palavras-chave: *Cyperus rotundus*; Extratos aquosos; Hidrolatos; *Meloidogyne incognita*; *Rumex crispus*; *Solanum lycopersicum*.

ABSTRACT

Organic Farming is a model capable of responding to a sustainable development and circular economy an opportunity for greater efficiency and management of natural resources. Two major agronomic problems are root twig nematodes and spontaneous plants. Bean peel is a by-product of the agri-food industry that can be taken into consideration to combat them. In this study, *in vitro* tests were carried out to test the effects of bean pod extracts, seedless, oxidised on the mortality of young people in the second stage of *Meloidogyne incognita* as well as of bean pod extracts, seedless, oxidised and hydrolats on the germination and development of plants of *Solanum lycopersicum*, *Rumex crispus* and *Cyperus rotundus*.

The results obtained indicate that bean extract at 10% is the best nematicide potential. In the hydrolats assay, to test the inhibition of *Rumex crispus* seeds, those of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia canariensis* showed better germination inhibitory effect and in the *Cyperus rotundus* assay the promoter potential of *Melaleuca alternifolia*, *Saponaria officinalis* and *Solanum mauritianum* is found.

The effects obtained should be taken into account in a more sustainable view in the control of enemies of agricultural crops.

Keywords: *Cyperus rotundus*; Aqueous extracts; Hydrolats; *Meloidogyne incognita*; *Solanum lycopersicum*; *Rumex crispus*.

ÍNDICE

Listas de figuras	xi
1 Introdução	1
1.1 Produção Biológica	1
1.2 Economia Circular	2
1.3 Nemátodes	4
1.4 Infestantes	7
1.5 Fava	8
1.6 <i>Cyperus rotundus</i> L. e <i>Rumex crispus</i> L.	10
1.7 Hidrolatos	11
1.8 Objetivos	14
2 Materiais e Métodos.....	15
2.1 Preparação dos extratos de vagem de fava oxidada	15
2.2 Preparação dos hidrolatos	16
2.3 Potencial nematodocida do extrato de fava oxidado.....	16
2.3.1 Obtenção dos jovens do segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i>	16
2.3.2 Estudo dos efeitos do extrato de fava oxidado	17
2.4 Potencial herbicida do extrato de fava oxidado	17
2.4.1 Estudo do potencial herbicida em <i>Solanum lycopersicum</i> Mill, <i>Rumex crispus</i> L. e <i>Cyperus rotundus</i> L.....	17
2.4.2 Estudo do potencial herbicida no banco de sementes do solo	18
2.5 Potencial herbicida de hidrolatos	19
2.5.1 Estudo do efeito herbicida de hidrolatos em <i>Rumex crispus</i> L e <i>Cyperus rotundus</i> L.....	19
3 Resultados.....	20
3.1 Avaliação do potencial nematocida do extrato de fava oxidado.....	20

3.2	Avaliação do potencial herbicida do extrato de fava oxidado	20
3.2.1	Avaliação do efeito herbicida do extrato de fava oxidado em <i>Solanum lycopersicum</i> Mill	20
3.2.2	Avaliação do efeito herbicida do extrato de fava oxidado em <i>Rumex crispus</i> L.....	23
3.2.3	Avaliação do efeito herbicida do extrato de fava oxidado em <i>Cyperus rotundus</i> L.	25
3.2.4	Avaliação do efeito herbicida do extrato de fava oxidado no banco de sementes do solo	27
3.3	Avaliação do efeito herbicida de hidrolatos.....	29
3.3.1	Avaliação do efeito herbicida de hidrolatos em <i>Cyperus rotundus</i> L.....	29
3.3.2	Avaliação do efeito herbicida de hidrolatos em <i>Rumex crispus</i> L.....	29
4	Discussão	31
5	Considerações Finais	34
6	Referências Bibliográficas	35

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema da Economia Circular	2
Figura 2 - Ciclo de vida do género <i>Meloidogyne</i>	5
Figura 3 – Esquematização botânica de <i>Vicia faba</i>	8
Figura 4 - Efeito nematicida de extrato de fava a 0,1, 1 e 10% sobre os nemátodes-das-galhas-radiculares <i>Meloidogyne incognita</i> . Os resultados correspondem à média da mortalidade mais desvio padrão de 4 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 nemátodes do género <i>Meloidogyne incognita</i> ; colunas seguidas de letras diferentes, para o mesmo tempo de observação, apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$), de acordo com o teste Tukey.	20
Figura 5 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre sementes de <i>Solanum lycopersicum</i> . Os resultados correspondem à média de inibição da germinação mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de <i>Solanum lycopersicum</i> ; colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$), de acordo com o teste Tukey.....	21
Figura 6 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre sementes de <i>Solanum lycopersicum</i> . Os resultados correspondem à média do comprimento de radículas mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de <i>Solanum lycopersicum</i> ; colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$), de acordo com o teste Tukey.	22
Figura 7 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre sementes de <i>Solanum lycopersicum</i> . Os resultados correspondem à média do comprimento de caules mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de <i>Solanum lycopersicum</i> ; colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$), de acordo com o teste Tukey.....	22
Figura 8 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre sementes de <i>Rumex crispus</i> . Os resultados correspondem à média de inibição da germinação mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de <i>Rumex crispus</i>	23
Figura 9 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre sementes de <i>Rumex crispus</i> . Os resultados correspondem ao comprimento da radícula, mais desvio padrão de	

5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de <i>Rumex crispus</i> ; colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), de acordo com o teste Tukey.	24
Figura 10 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre sementes de <i>Rumex crispus</i> . Os resultados correspondem ao comprimento do caule, mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de <i>Rumex crispus</i>	24
Figura 11 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre tubérculos de <i>Cyperus rotundus</i> . Os resultados correspondem à média de inibição da germinação mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 7 tubérculos de <i>Cyperus rotundus</i>	25
Figura 12 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre tubérculos de <i>Cyperus rotundus</i> . Os resultados correspondem à média de rebentos do caule mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 7 tubérculos sementes de <i>Cyperus rotundus</i>	26
Figura 13 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre tubérculos <i>Cyperus rotundus</i> . Os resultados correspondem à massa das raízes de <i>Cyperus rotundus</i> , de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 7 tubérculos <i>Cyperus rotundus</i> ; colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), de acordo com o teste Tukey.	26
Figura 14 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre tubérculos <i>Cyperus rotundus</i> . Os resultados correspondem à massa dos caules de <i>Cyperus rotundus</i> , de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 7 tubérculos <i>Cyperus rotundus</i>	27
Figura 15 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre monocotiledóneas. Os resultados correspondem ao nº de monocotiledóneas, de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 mL de solo.	28
Figura 16 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre dicotiledóneas. Os resultados correspondem ao nº de dicotiledóneas, de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 mL de solo.	28
Figura 17 - Efeito herbicida dos hidrolatos de <i>Artemisia gorgonum</i> , <i>Foeniculum vulgare</i> , <i>Melaleuca alternifolia</i> , <i>Olea europea</i> , <i>Ruta graveolens</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Salvia canariensis</i> , <i>Saponaria officinalis</i> e <i>Solanum mauritianum</i> sobre <i>Cyperus rotundus</i> . Os	

resultados correspondem à média de inibição da germinação mais desvio padrão de 4 repetições, sendo cada repetição constituída por 7 tubérculos de *Cyperus rotundus*. 29

Figura 18 - Efeito herbicida dos hidrolatos de *Artemisia gorgonum*, *Foeniculum vulgare*, *Melaleuca alternifolia*, *Olea europea*, *Ruta graveolens*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia canariensis*, *Saponaria officinalis* e *Solanum mauritianum* sobre *Rumex crispus*. Os resultados correspondem à média de inibição da germinação mais desvio padrão de 4 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de *Rumex crispus*; colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), de acordo com o teste Tukey. 30

1 INTRODUÇÃO

1.1 Produção Biológica

A Agricultura Biológica iniciou-se com um movimento de pensadores onde se destacam o austríaco Rudolf Steiner em 1924, o suíço Hans Muller em 1924, na Índia Albert Howard em 1943 e Lady Eve Balfour fundadora em Inglaterra, no ano de 1946, do primeiro movimento de agricultura biológica. No Japão Mokita Okada, em 1935, inicia a agricultura natural. Finalmente, em 1972, na cidade de Versailles é fundada a IFOAM (Federação Internacional dos Movimentos da Agricultura Orgânica) onde são debatidos os princípios que devem nortear este modo de produzir alimentos. Desde 2005 que os princípios da Agricultura Biológica são: o princípio da Saúde, o princípio da Ecologia, o princípio da Integridade e o princípio da Precaução (Ferreira, Conceitos, Princípios, Fundamentos e Práticas, 2012a).

Nos pressupostos dos princípios da Agricultura Biológica e de acordo com o regulamento UE nº 2018/848 (UE, 2018) atualmente, este modo de produção, define-se como “um sistema global de gestão das explorações agrícolas e de produção de géneros alimentícios que combina as melhores práticas em matéria ambiental e climática, um elevado nível de biodiversidade, a preservação dos recursos naturais e a aplicação de normas exigentes em matéria de bem-estar dos animais e de normas exigentes em matéria de produção em sintonia com a procura, por parte de um número crescente de consumidores de produtos produzidos através da utilização de substâncias e processos naturais. A produção biológica desempenha, assim, uma dupla função social: por um lado, abastece um mercado específico que responde à procura de produtos biológicos por parte dos consumidores e, por outro, fornece bens disponíveis para o público em geral que contribuem para a proteção do ambiente e do bem-estar dos animais, bem como para o desenvolvimento rural.”

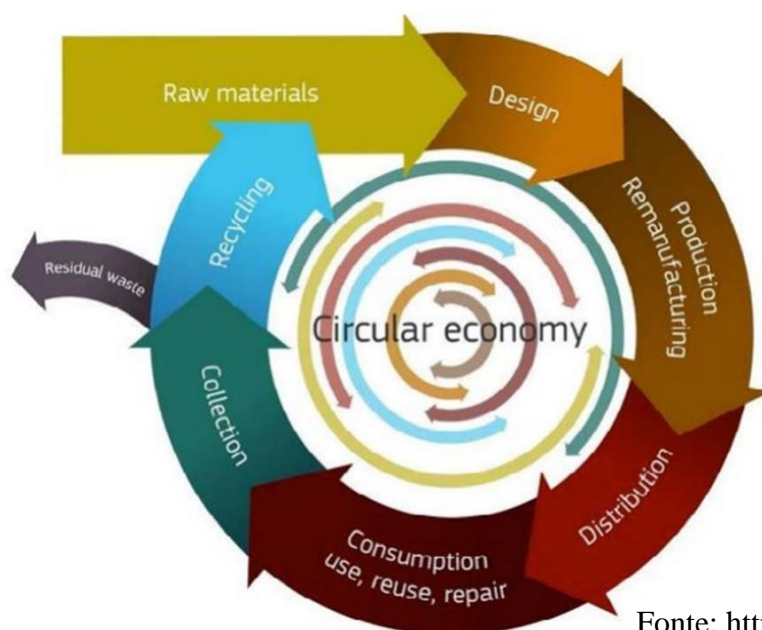
A ONU (Organização das Nações Unidas), na agenda 2030 fixada na cimeira de 25 a 27 de setembro de 2015, propõe 17 objetivos de desenvolvimento sustentável. O segundo objetivo “acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável” e o décimo quinto objetivo “proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da terra e deter a perda de biodiversidade” são os relacionados com a produção agrícola, onde a Agricultura Biológica enquadra-se como um modelo

agrícola sustentável e capaz de dar resposta a um desenvolvimento sustentável. A ONU perspetiva que até 2030 a produção dos resíduos produzidos por produtos alimentares diminua através da sua redução, reciclagem e reutilização, bem como através da redução dos desperdícios de alimentos ao longo das cadeias de produção (ONU, 2019). Os biofertilizantes e os biopesticidas podem desempenhar um papel significativo no que são fatores de produção mais sustentáveis (Kalra & Khanuja, 2007).

A Produção Biológica preconiza circuitos fechados de nutrientes, pelo princípio da ecologia, objetivo semelhante ao da Economia Circular. Também é objetivo comum, pelo princípio da integridade, que os sistemas de produção, distribuição e venda sejam disponibilizados a todos, tendo presente os custos ambientais e sociais. Apesar de já ser realidade alguns dos aspetos de economia circular, o caminho a percorrer ainda é longo. Se na área dos fertilizantes já existem algumas realidades, nos fitofarmacêuticos o caminho ainda vai no início.

1.2 Economia Circular

A economia circular (Figura 1) ganha maior ênfase, por ser convergente com os objetivos para o desenvolvimento sustentável. Este modelo económico tem como estratégia a redução, reutilização, recuperação e reciclagem de materiais e energia. Tem como conceção terminar com o conceito de fim-de-vida da perspetiva linear e



Fonte: <https://eco.nomia.pt>

Figura 1 - Esquema da Economia Circular

implementar correntes circulares onde se possa reutilizar, recuperar e reciclar materiais e energia (Monteiro & Flores, 2018; Leitão, 2015).

Assim, este modelo económico, é um elemento chave para a progressão da separação entre o crescimento económico e o consumo de recursos, situação que se pensara ser inflexível e inalterável. Voltada para o modelo que os ecossistemas naturais nos apresentam, gestão a longo prazo, reabsorção e reciclagem, o modelo económico circular apresentado aperfeiçoa-se e alinha-se com coordenação de sistemas de produção e consumo em circuitos fechados, tal como a Produção Biológica preconiza. A atual tendência do crescimento da população, que por consequência obrigará a um aumento do consumo de recursos naturais, tem obrigado, as sociedades modernas, a repensar em alternativas mais sustentáveis, numa economia mais preocupada com a natureza, com garantia de desenvolvimento económico, de emprego e com reconstituição do “capital natural”. Este novo modelo que opera em circuitos fechados é uma solução para reduzir o consumo de materiais e as perdas de energia. A Economia circular é apresentada para a mudança da situação vigente, consequente da globalização dos mercados e dos problemas ambientais, sendo uma forma de encarar os desafios económicos, sociais e ambientais futuros em alternativa ao modelo de extração, produção e eliminação atual. A crescente implementação da economia circular é um caminho que é trilhado em conjunto por empresas e consumidores, no entanto, é necessário o esforço do governos e autoridades locais (Monteiro & Flores, 2018; Leitão, 2015).

Com o empenho de todos os agentes do ciclo de vida de um produto é possível que o valor de produtos, materiais e recursos se mantenha na economia por um período mais alargado e os resíduos, serem reaproveitados e reduzidos ao mínimo possível. Este é um contributo essencial para o esforço da UE (União Europeia) de uma economia sustentável, a caminhar para a redução carbónica e mais eficiente na competitividade e gestão de recursos. A reciclagem dos nutrientes é um dos pontos mais interessantes gerando matérias-primas secundárias de especial interesse. Um exemplo são os resíduos orgânicos que, devidamente tratados, podem ser restituídos ao solo em forma de fertilizante. Com este procedimento reduz-se a necessidade de fatores de produção externos, reduz-se a produção de fertilizantes sintéticos que possuem um impacto nefasto ao ambiente e reintroduz-se no sistema a matéria, dando origem a uma matéria-prima secundária (Comissão Europeia, 2015; Katainen, 2019).

1.3 Nemátodes

O homem, bem como os animais, recorre às plantas para a sua dieta diária. Estas, cultivadas ou espontâneas, crescem normalmente quando as condições básicas ao seu desenvolvimento sejam favoráveis como são um solo fértil, disponibilidade hídrica e exposição solar adequadas. O crescimento normal fica comprometido quando as plantas são afetadas por inimigos. Alguns desses ataques mais severos comprometem qualitativamente e quantitativamente a produção (Agrios, 2005).

Do conjunto numeroso de inimigos das plantas, os nemátodes fitoparasitas são muitas vezes desvalorizados uma vez que estão ocultos no solo (Jairajpuri, Alam, & Ahmad, 1990).

Estes estão muito distribuídos levando a danos severos nas culturas que dependem da densidade populacional, densidade de plantação e presença da planta hospedeira bem como de outros fatores como o solo, o clima e a presença de outras pragas e doenças (Mourão, 2007; Coyne, Nicol, & Claudius-Cole, 2007; Jones, et al., 2013).

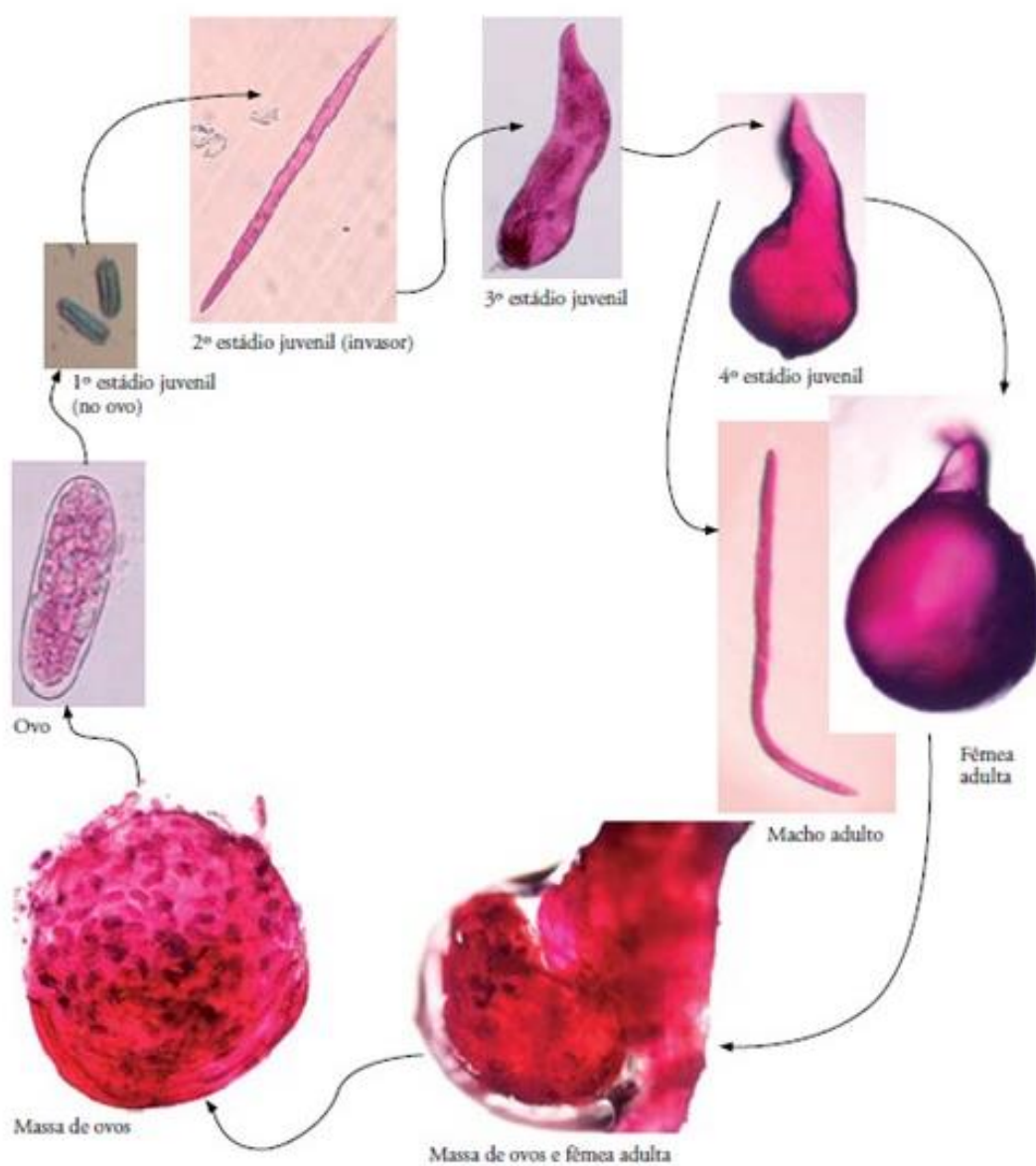
Estes inimigos ao reduzirem a mobilidade da água e de nutrientes fazendo com que as plantas fiquem mais débeis e, por consequência, menos produtivas (Jones & Jones, 1964; Sasser, Carter, & Hartman, 1985; Agrios, 2005).

Os nemátodes-das-galhas-radiculares (NGR) causam galhas nas raízes das plantas sendo esta a resposta das plantas aos ataques destes inimigos. As espécies de *Meloidogyne* que parasitam quase todas as plantas e estão amplamente distribuídas são *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* e *M. javanica* (Sasser, Carter, & Hartman, 1985; Karssen & Moens, 2006).

Os labirintos de microtúbulos do solo e os tecidos vegetais são os locais onde os nemátodes fitoparasitas são, em regra, encontrados. Estes possuem um estilete com o qual perfuram as células do hospedeiro para se alimentarem (Jones & Jones, 1964; Rubina, 2003).

Os nemátodes fitoparasitas apresentam uma forma regular, alongada e cilíndrica, e as extremidades gradualmente mais estreitas. A designação tem origem no grego *nema* que significa fio. Esta forma permite o movimento serpentiforme para a sua locomoção. Estes nemátodes são, na sua generalidade, incolores e transparentes, apenas aparecem algumas tonalidades castanhas provenientes do conteúdo intestinal, sendo esta vista por transparência. (Bergamim Filho, Kimati, & Amorim, 1995; Coyne, Nicol, & Claudius-Cole, 2007; Ferraz & Monteiro, 1995)

O ciclo de Vida de *Meloidogyne* (Figura 2) tem início com as fêmeas a depositarem ovos em massas gelatinosas onde são mantidos juntos e protegidos de predação e das condições ambientais, localizam-se, em regra, nas raízes com galhas e tem propriedades antimicrobianas. No interior do ovo, a embriogénese avança para o primeiro estágio juvenil (J1). Após a mudança para o segundo estágio juvenil (J2), que depende, essencialmente, da temperatura (20 a 30 °C para *Meloidogyne incognita*) e umidade o J2 eclode, sendo esta a fase invasiva (Perry, Moens, & Starr, 2009).



Fonte: Coyne, Nicol, & Claudius-Cole (2007)

Figura 2 - Ciclo de vida do género *Meloidogyne*

Estes nemátodes tem uma capacidade de sobrevivência acrescentada por fatores fisiológicos e adaptações bioquímicas, onde se compreende dilatações da embriogénese, quiescência e diapausa. O J2, no solo, tem urgência em localizar um hospedeiro por ser vulnerável. Assim que encontra um hospedeiro, invade a raiz e inicia a sua nutrição e desenvolve um local de alimentação permanente, originando células de emergência, designada por célula gigante, onde o J2 se torna sedentário e aumenta o seu volume. Nas condições favoráveis o J2 muda para J3 ao 14º dia, depois para J4 e finalmente para adulto. Os machos ocorrem em espécies partenogénicas quando as condições são adversas para o desenvolvimento feminino, bem como em populações de grande dimensão e provavelmente por escassez de alimento (Perry, Moens, & Starr, 2009).

Algumas das formas de combate a estes inimigos das culturas, pouco expeditas, são a solarização e a biofumigação, recorrendo a estrume de ovelha e substrato de cogumelos ou estrume de galinha, no combate de *M. incognita*, ou bagaço de azeitona no caso do combate de *Meloidogybe spp.* (Ferreira, Biofumigação e Solarização do Solo, 2012b). Em alternativa pode-se recorrer ao uso de plantas armadilha como *Tagetes patula*, *Tagetes erecta* e *Tagetes minuta* bem como da *Crotalaria* (*Crotalaria juncea*) no combate de nemátodes do género *Meloidogyne* (Strecht & Ferreira, 2012c).

Quando consultado o Guia dos Produtos Fitofarmacêuticos em MPB, concluiu-se a inexistência de nematicidas permitidos em agricultura biológica (Silva, et al., 2011).

Recorrendo ao Guia dos Produtos Fitofarmacêuticos - Lista dos Produtos com Venda Autorizada, os nematicidas apresentam várias advertências como irritantes, nocivos, corrosivos, tóxicos e perigosos para o ambiente (Cavaco & Mendes, 2016).

Neste contexto urge desenvolver estratégias para a minimização do impacto destes inimigos, tendo em conta que estas deverão ser eficazes, específicas e com o menor impacto possível para o meio ambiente (Abrantes, 2007).

Os pesticidas de síntese química apresentam graves problemas pela elevada toxicidade, quer para a saúde humana, quer para o meio ambiente. É eminente a procura de alternativas sustentáveis e mais amigas do ambiente (Oka, 2000; Chitwood, 2002; Tsay, Wu, & Lyn, 2004; Galhano, 2005; Martins, Costa, & Cabral, 2015).

1.4 Infestantes

As infestantes, plantas que competem com as culturas, são outro problema da produção vegetal de difícil controlo em Produção Biológica. O controlo convencional de infestantes é efetuado pelo recurso a herbicidas de síntese que não são permitidos na Produção Biológica. Estes são potencialmente responsáveis por vários problemas ambientais e de saúde pública. Neste sentido é pertinente a procura de alternativas mais sustentáveis e amigas do ambiente para o controlo destas (CE, 2007).

Em Produção Biológica as infestantes devem ser controladas por práticas preventivas como uma gestão em consonância com os princípios da ecologia, conhecimento dos ciclos de vida das infestantes e das cultivares, inclusão de práticas que permitam reduzir o impacto nefasto, rotações de culturas mais longas e adição da pastagem nestas, o empalhamento, mobilizações apenas quando necessárias e indispensáveis, introdução de culturas intermédias de rápido crescimento, utilização de plantas de viveiro, privilegiar as variedades locais das culturas, compostagem para eliminação de sementes, equilíbrio do pH do solo e por fim o recurso a falsas sementeiras. No entanto muitas das vezes é necessário o recurso a medidas diretas de intervenção como o mondador térmico, o sachador de estrelas, a multifresa, o vibrocultor e a grade de dentes flexível. Nas culturas perenes pode recorrer a cobertos de pastagens ou introduzir-se animais na exploração, quando estes não afetam negativamente a cultura. No entanto o controlo de infestantes continua a ser um desafio para a Produção Biológica. As alternativas aos herbicidas em produção biológica são deficitárias, recorrendo-se a metodologias pouco eficientes e com recurso a combustíveis fósseis (Marques J. , 2012d).

O controlo convencional de infestantes é efetuado pelo recurso a herbicidas de síntese. Estes são potencialmente responsáveis por vários problemas ambientais e de saúde pública. Ultimamente a discussão sobre o glifosato, um dos herbicidas mais usados, tem sido frequente pelos malefícios causados na saúde humana. As notícias sobre esta temática são alarmantes para a sociedade em geral. A preocupação cresce quando não existe nenhuma alternativa isenta de perigo para os ecossistemas. O glifosato é detetado em análises de rotina alimentar, de qualidade do ar, da água pluvial e nos fluidos humanos, nomeadamente no leite materno. Este será o produto de uma utilização que aumentou 30% nos últimos 10 anos. Alguns artigos recentes mostram a relação entre o glifosato e algumas patologias como são as doenças celiaca

e renal, infertilidade, malformações congénitas e autismo. Afeta ainda a placenta bem como hormonas sexuais. A agência internacional para a investigação do cancro anunciou, em março de 2015, o glifosato como “carcinogénico provável”. Ao contrário do que por vezes é divulgado, o glifosato não é de degradação rápida no solo (Silva J. M., 2015).

Assim, a agricultura em geral, recorre, para proteger as plantas de fatores bióticos, a vários métodos de controlo, incluindo o uso de produtos fitofarmacêuticos. Estes são formulados por substâncias naturais ou de síntese. As substâncias naturais, geralmente, incluem produtos de origem vegetal. Contudo, o grande grupo, e o mais vasto, é o dos produtos fitofarmacêuticos de síntese, obtidos por via química (Simões, 2005).

Os fitofármacos incluem compostos biologicamente ativos e podem acabar por afetar o equilíbrio da biodiversidade direta ou indiretamente, os meios aquáticos e terrestre. Portanto, a eficiência dos produtos e a segurança na sua utilização são os aspetos mais importantes e, desse modo, existe a necessidade de evolução e inovação de forma a obter soluções melhoradas e mais seguras (ICNF - Produtos Fitofarmacêuticos e Biodiversidade A produtividade agrícola e a conservação da biodiversidade, 2015).

1.5 Fava

A fava (*Vicia faba* L.) (Figura 3) é a única espécie cultivada do género *Vicia*, que compreende 150 espécies. Este género é ainda importante por compreender as espécies *Vicia monanthos*, *V. villosa* e *V. sativa* plantas forrageiras. A fava também foi designada por Moench como *Faba vulgaris*. É da família *Fabaceae*, anteriormente designada por *Leguminosae*. Esta leguminosa apresenta duas subespécies, *V. faba* subp. *paucifuga* e *V. faba* subp. *faba*, a



Figura 3 – Esquematisação botânica de *Vicia faba*

primeira utilizada como proteagínosa seca na Ásia Central e a segunda apresenta ainda três grupos de cultivares, as variedades major, minor e equina. Destas, as duas primeiras cultivares destinam-se à alimentação humana sendo a minor também utilizada para alimentação animal junto da variedade equina. A fava seca no mundo é quatro vezes mais produzida que a fava fresca sendo o maior produtor a China com metade da produção de fava seca e 12% da produção mundial de fava fresca. Em Portugal a fava produzida é para consumo em fresco e ocupa aproximadamente 1150 ha, localizando-se a produção principalmente no Algarve e na Região do Ribatejo e Oeste (Almeida, 2006).

A faveira é uma planta anual e herbácea com um sistema radicular bem desenvolvido, profundo e aprumado. Como as restantes plantas da mesma família esta planta estabelece relações simbióticas com o rizóbio manifestadas em nódulos radiculares característicos desta ligação. O caule de porte ereto apresenta 4 faces e uma cavidade oca interna. A altura das plantas varia entre os 0,70 e 1,50 m. As folhas são paripinuladas variando entre 2 a 6 pares de folíolos. As estípulas são escuras e não detêm gavinhas. A floração ocorre entre o 5º e o 10º nós tendo a corola papilionácea a cor branca com apontamentos negros. São plantas autogâmicas, no entanto, apresentam até 50% de alogamia. A vagem é o fruto da faveira, sendo esta carnuda, pubescente e deiscente de comprimento variável e número de sementes entre as 4 e as 10 por vagem (Almeida, 2006).

Foi estudado o efeito alelopático de *V. faba* e conclui-se que esta possui um forte potencial no controlo de plantas infestantes em sistemas de produção sustentável, como é a Produção Biológica. Existe ainda necessidade de conhecer melhor o comportamento desta leguminosa em relação às plantas infestantes sendo os estudos preliminares de controlo de infestantes bastantes satisfatórios (Álvares-Iglesias, Puig, Garabatos, Reigosa, & Pedrol, 2014; Massucati & Köpke, 2010).

A Frip é uma empresa com sede na Gafanha da Nazaré que opera na conservação de pescado, frutos e produtos hortícolas. Esta é uma das empresas portuguesas que produz aproximadamente 1000 toneladas de resíduos de vagem de fava. As vagens, ao longo do tempo, vão sofrendo oxidação, resultado num escurecimento enzimático e oxidação de substâncias pela exposição ao ar. Neste momento, as grandes indústrias utilizam-nas para produção de adubo orgânico, ao passo que as pequenas indústrias as reaproveitam para ração animal (Degáspari & Waszcynsky, 2004; Cordeiro, 2016).

O potencial fitotóxico da faveira foi avaliado por bioensaios de laboratório de extrato aquoso e de solo. Existem evidências fortes de efeitos inibitórios no crescimento precoce da alface. Também é evidente que os extratos aquosos de fava inibem, significativamente, a germinação e crescimento precoce de plantas espontâneas. A vagem de fava, sem semente, oxidada destacou-se quando realizado o estudo da inibição da acetilcolinesterase. Existem evidências que o extrato de vagem de fava, sem semente oxidada, tem potencial efeito nematocida em relação a *Meloidogyne* (Barbosa, 2018; Marques M. V., 2018; Álvares-Iglesias, Puig, Garabatos, Reigosa, & Pedrol, 2014; Santos, 2017).

Certas pessoas desenvolvem uma reação anêmica a uma substância tóxica presente na fava, a vicina. O favismo é uma deficiência enzimática transmitida geneticamente e muito frequente nos países mediterrânicos e é uma hemólise aguda. A sintomatologia caracterizada por náuseas, vômitos, mal-estar generalizado e vertigens, desenvolve-se horas depois da ingestão. Esta patologia é originada por uma variante da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) (Requena, 2007; Fuentes, 2016) .

1.6 *Cyperus rotundus* L. e *Rumex crispus* L.

Cyperus rotundus L. é uma infestante muito problemática e com impacto economicamente negativo importante. Está difundida pelas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Pode causar perdas de rendimento de 20 a 90% em várias culturas em todo o mundo. É perene e tem capacidade em adaptar-se a condições climáticas hostis. A sua reprodução é elevada e tem uma fácil dispersão tendo forte capacidade para competir, fruto do seu elevado potencial alelopático. Para o seu combate recorre-se a culturas resistentes e operações de controlo de infestantes, nem sempre eficazes. Em produção convencional recorre-se a herbicidas de pré-emergência e pós-emergência, no entanto a planta tem capacidade para perpetuar no solo. Em Produção Biológica, o controlo é dificultado uma vez que só é possível recorrer a técnicas menos eficazes como mondas térmicas e sachas. É oportuno encontrar soluções mais ecológicas e expeditas no controlo de *Cyperus rotundus* (Peerzada, 2017).

Rumex crispus, é uma planta herbácea com 1,3m de altura. Está repartida por toda a Península Ibérica. O seu habitat de eleição são os pastos húmidos nitrificados e bordas de cursos de água. Em altitude ocorrem até aos 2000 m. Esta planta perene,

que se estabelece facilmente, apresenta formas persistentes de reprodução que originam a permanência de sementes no solo por grandes períodos de tempo. É uma infestante quando ocorre em abundância e causa uma grande competição com a cultura instalada. Para o seu controlo foram estudados *Gastrophysa spp.* e *Uromyces rumicis* como agentes de controlo biológico. Para o controlo desta infestante recorre-se à remoção manual, rotações e pousio para remoção e controlo de sementeira natural. Nenhum dos métodos é eficaz, recorre-se aos vários métodos em simultânea para obter melhor resultados. A lavoura também é um método para o controlo, no entanto, só uma lavoura em profundidade pode ser eficaz, uma vez que cada fragmento pode brotar uma nova planta. Apesar desta forma de combate ser a mais eficaz, em Produção Biológica, a mobilização além da camada superficial (15 a 20 cm) é desaconselhada, sendo indicada apenas para situações de má drenagem ou para casos de ausência de arejamento do solo (Foster, 2012; Pye, Andersson, & Håkan, 2011; Mourão, 2007; Flora Iberica, 2019c).

Por serem plantas problemáticas nos sistemas de produção, causando perdas de produção e gastos consideráveis para o seu combate, é pertinente o estudo de formas alternativas de combate a estas plantas infestantes.

1.7 Hidrolatos

A hidrodestilação é um método usado para extrair óleo essencial de uma planta. Deste processo resulta o produto objeto, o óleo essencial, e a fração aquosa, o hidrolato. O processo tem como princípio colocar a água em ebulição para abrir as células e, dessa forma, ocorre a libertação do conteúdo nelas retido. O vapor de água, com os compostos libertados pelo material vegetal, é forçado a deslocar-se para dentro do condensador, passando ao estado líquido, sendo este recolhido num recipiente. Os hidrolatos possuem as mesmas características que os respetivos óleos essenciais, no entanto a sua ação é mais suave (Aires, 2018; Schmidt, 2010).

As plantas *Artemisia gorgonum*, *Melaleuca alternifolia*, *Ruta graveolens*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia canariensis* e *Saponaria officinalis* são importantes economicamente uma vez que delas se extrai óleo essencial para vários fins, como perfumaria e indústria farmacêutica. *Foeniculum vulgare* é importante por ser usado como condimentar. A *Olea europeae* é particularmente importante pelo óleo alimentar que dela se extrai. *Solanum mauritianum*, é interessante pela toxicidade que é conhecida.

Artemisia gorgonum é uma espécie herbácea pertencente à família *Asteraceae*. É uma planta medicinal e tradicional endêmica de Cabo Verde. O seu nome comum é lorna ou losna. As plantas adultas, com mais de 1 m são extremamente raras hoje em dia. As grandes plantas até 2 m são conhecidas apenas nas escarpas externas da caldeira central do Fogo – ilha do Fogo – Cabo Verde. Prefere zonas sub-húmidas e húmidas, mas também foi relatado na zona árida de Santiago. A principal distribuição altitudinal é entre 400 m e 2200 m. Os recordes mais altos são da borda da caldeira no Fogo de 2400 m. Geralmente as plantas crescem nas encostas das montanhas e menos frequentemente em falésias íngremes e formam um elemento característico, mas não dominante, da vegetação montanhosa indígena nas ilhas de Cabo Verde (EOL, 2019a).

Foeniculum vulgare é uma planta herbácea pertencente à família *Apiaceae*. É uma planta condimentar endêmica da Península Ibérica. O seu nome comum é funcho ou erva-doce. É uma planta perene que atinge 2,5 m de altura. É uma planta que prefere bordas de caminho, pousios, matagais e terras de cultivo. A distribuição em altitude é até aos 1200 m. Os frutos secos são usados como condimentos. A raiz é tida como diurética e digestiva, enquanto as folhas são tidas como antiasmáticas e o fruto como carminativo. As partes tenras são consumidas em saladas e as folhas usadas como condimento. Os frutos são usados na preparação de licores e de pasteis (Flora Iberica, 2019a).

Melaleuca alternifolia é um arbusto perene pertencente à família *Myrtaceae*. É endêmica da Austrália. É comum ser conhecida por árvore do chá. Cresce ao longo de pequenas linhas de água e em áreas pantanosas. Pode atingir 7 m de altura, as suas folhas são lineares e a inflorescência é branca ou creme. Na Austrália são usadas as folhas esmagadas para inalação dos óleos com o objetivo de curar tosse e resfriados. A infusão é usada para tratar dores de garganta ou doenças de pele. O óleo essencial é um antibacteriano tópico sendo usado como antisséptico tópico pelas suas propriedades microbianas, especialmente no tratamento da acne (EOL, 2019b).

A Oliveira (*Olea europeae*) é uma árvore que pode atingir os 15 m de altura e com troncos de 1,5 a 2 metros de diâmetro, pertencente à família *Oleaceae*. É provavelmente uma das culturas mais antigas utilizadas pelo Homem. A sua origem provável será à 6000 anos atrás na Ásia Menor. Na península ibérica foi introduzida no ano 600 a.C., originando uma forte expansão por todo o território mediterrâneo. As folhas da oliveira são persistentes, de crescimento lento e de grande longevidade.

O fruto da oliveira, mais conhecido por azeitona, é uma drupa, com um pericarpo rico em lípidos. Desta drupa produz-se um óleo muito apreciado e valorizado - azeite (Tapia C., et al., 2003; Flora Iberica, 2019b; Rodrigues & Correia, 2009; Jesus, 2013).

A arruda (*Ruta graveolens*) é uma planta ornamental da família *Rutaceae*. É nativa da Península Balcânica. Nalgumas partes do mundo também é cultivada como uma erva medicinal, como condimento e, em menor grau, como repelente de insetos. As lagartas da borboleta *Papilio machaon* alimentam-se de arruda, entre outras plantas. Tem uma forte conotação com o mundo oculto, sendo por isso ainda hoje cultivada. A exposição à arruda comum, ou às preparações à base de plantas dela derivadas, pode causar fitodermatite grave que resulta em bolhas na pele semelhantes a queimaduras (EOL, 2019c; Ministério da Saúde e Anvisa, 2015).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis*) é um arbusto sempre-verde, geralmente ereto e espesso, com até 2 m de altura e largura da família da *Lamiaceae*.

É uma planta nativa da região do Mediterrâneo de onde foi introduzida em todos os continentes. Os constituintes principais são o 1,8-cineol, cânfora, borneol, acetato de bornila, canfeno, α -pineno, p-cimeno, mirceno, sabineno, β -felandreno, β -pineno, dipenteno e β -cariofileno (CABI, 2019; Porte & Godoy, 2018).

Salvia canariensis é um arbusto grande e robusto, que rapidamente atinge 2,5 m de altura e até 3 m de largura da família *Lamiaceae*. Tem uma durabilidade de vida curta, está adaptado à seca e à exposição solar. É nativa das ilhas Canárias. Os componentes químicos de realce são o acetato de bornila (17,8 a 28,6%), β -cariofileno (12,7 a 30,2%), α -pineno (4,6 a 9,5%) e viridiflorol (13,9 a 17,3 %) (Waterwise Community Center, 2019; Vallejo, et al., 2006).

A Erva-saboeira (*Saponaria officinalis* L.) é uma planta herbácea da família *Caryophyllaceae*. Geralmente é encontrada em sebes e em terras baixas, junto de caminhos e em pequenos cursos de água. É encontrada em quase toda a Europa, na Ásia e na Macaronésia. Usa-se geralmente a raiz pelas suas virtudes em inflamações cutâneas e em erupções cutâneas (Neto & Simões, s.d.).

Solanum mauritianum é um arbusto ou pequena árvore até 8 m de altura da família *Solanaceae*. É caducifólia e encontra-se em locais ensolarados ou ligeiramente sombreadas, em matagais, nas margens de caminhos, em terrenos baldios e orlas de florestas. O fruto é uma baga ereta, com 9 a 18 mm de diâmetro, esférica, amarela, coberta de densos pelos. Espécie introduzida como ornamental, tem vindo nos últimos anos a propagar-se a partir de restos de jardins, junto a

povoações, margens de bosques perturbados, linhas de água e caminhos, baldios e áreas cultivadas. Introduzida e naturalizada em muitos países tropicais e nos Açores. Subespontânea em Portugal. É utilizado como ornamental em parques e jardins, contudo é uma espécie muito tóxica, inclusivamente para o Homem (Serralves, 2019).

1.8 Objetivos

A Produção Biológica é uma forma de produção agrícola sustentável, quando comparada com a Produção Convencional, utilizando práticas que se preocupam em respeitar os ciclos dos seres vivos bem como de todo o ecossistema. Alicerçado neste princípio, este trabalho tem como principais objetivos: a) procurar alternativas ecosustentáveis para os nematicidas e herbicidas químicos de síntese; b) desenvolver uma estratégia de gestão sustentável e ecológica para o controlo de nemátodes-das-galhas-radiculares e de infestantes explorando o potencial de subprodutos agro-alimentares e de hidrolatos, promovendo a economia circular.

Pretende-se, com este trabalho, encontrar potenciais alternativas para os desafios atuais da Produção Biológica em consonância com a valorização de resíduos Agro-alimentares e de hidrolatos preconizados com o conceito de economia circular. Neste sentido pretende-se valorizar os resíduos produzidos pelos produtos alimentares, como é a vagem da fava, sem semente, oxidada e os hidrolatos, sendo transformados em matérias-primas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparação dos extratos de vagem de fava oxidada

Os extratos de vagem oxidada utilizados no presente estudo prepararam-se usando material vegetal providenciado pela Professora Doutora Inês Seabra, do Departamento de Ciência e Tecnologia Alimentar da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra. O material teve origem na Frip, uma empresa sediada na Gafanha da Nazaré que faz conservação pelo frio de pescado, frutos e produtos hortícolas. Esta empresa produz fava congelada, realizando aproximadamente 1000 toneladas de resíduo. Para a sua obtenção, utilizou-se o método de extração sólido-líquido utilizando como solvente água destilada, à temperatura de $23\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Os extratos aquosos utilizados no presente estudo foram: 0,1%, 1% e 10%, para os ensaios do efeito nematicida e 3, 5%, 10% e 20%, para os ensaios do efeito herbicida.

Para os ensaios do efeito nematicida, em 3 balões de erlenmeyer de 250 mL dissolveu-se 0,02g, 0,2g e 2g de fava oxidada moída, para preparar uma solução a 0,1%, 1% e 10%, respetivamente, em 20 mL de água destilada por balão de erlenmeyer. De seguida, os balões de erlenmeyer foram agitados num agitador HEIDOLPH Unimax 1010, a 150 rpm durante 24 horas, o agitador tinha incorporado o sistema incubador modular Heidolf Inkubator 1000 mantendo-se a temperatura a $24\pm 2^{\circ}\text{C}$, e a mistura foi transferida para tubos de centrifugação e centrifugada (ROTANTA 460 R-Hettich Zentrifugen) a 14780 rpm, durante 3 horas, no caso das misturas a 1% e a 10%, ou 4 horas, no caso da mistura a 0,1%. As misturas mais concentradas foram decantadas e o respetivo sobrenadante foi centrifugado durante mais 2 horas nas condições indicadas acima. Por último, recolheu-se o sobrenadante dos extratos a 1% e a 10% para novos tubos de centrifugação e filtrou-se todos os extratos através de microfiltros de acetato de celulose com poros de $0,20\ \mu\text{m}$ (Chromafil CA-20/25 S).

Para os ensaios do efeito herbicida, num balão de erlenmeyer dissolveu-se 100g de fava oxidada moída, com auxílio de um moinho elétrico, para preparar uma solução a 20%, em 500 mL de água destilada. Agitou-se, durante 24 horas a 150 rpm, o agitador tinha incorporado o sistema incubador modular Heidolf Inkubator 1000 mantendo-se a temperatura a $24\pm 2^{\circ}\text{C}$, e centrifugou-se a 11500 rpm e 20°C , durante

15 minutos. O sedimento resultante foi descartado e o sobrenadante foi recolhido e centrifugado durante mais 15 minutos nas condições em cima mencionadas. Por último, recolheu-se o sobrenadante para novos tubos de centrifugação e foi congelado a aproximadamente -20°C. Conforme necessário, foram executadas diluições sucessivas para preparação de uma solução de 10%, utilizando volumes iguais de solução de 20% e de água destilada, e de 5%, utilizando volumes iguais da solução de 10% e de água destilada. Deste modo obteve-se 3 soluções, 5, 10 e 20%.

2.2 Preparação dos hidrolatos

Obtiveram-se hidrolatos de *Artemisia gorgonum*, *Foeniculum vulgare*, *Melaleuca alternifolia*, *Olea europea*, *Ruta graveolens*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia canariensis*, *Saponaria officinalis* e *Solanum mauritianum*.

A destilação, de 5 kg de matéria vegetal fresco, proveniente de Aidos da Vila - Quinta Biológica e Pedagógica, em 3L de água, realizou-se a 105°C, tendo as uniões sido seladas com farinha de milho amassada com água para que não ocorressem perdas de vapor de água. A extração ocorreu durante 60 minutos, encontrando-se a água na entrada do condensador a 19 e na saída a 31°C. Deixou-se a destilação ocorrer até perfazer 1L de hidrolato. O hidrolato foi conservado no frigorífico até à sua utilização.

2.3 Potencial nematodocida do extrato de fava oxidado

2.3.1 Obtenção dos jovens do segundo estágio de *Meloidogyne incognita*

Foram extraídas massas de ovos da raiz de um tomateiro infetado com nemátodes-das-galhas-radiculares. Esta planta foi gentilmente cedida pela Doutora Sofia Costa do Centro de Biologia Molecular e Ambiental da Universidade do Minho. Com o auxílio de um microscópio estereoscópico, foram retiradas massas de ovos e colocadas num pequeno crivo, preparado com um quadrado de nylon, com cerca de 30 µm de malha, preso com um elástico a um anel de plástico rígido, com cerca de 2,5 cm de diâmetro e 0,9 cm de altura. Esse crivo foi colocado numa caixa de Petri de vidro, com 6 cm de diâmetro, esterilizada com água destilada. Entre o fundo da caixa de Petri e o crivo foi colocado um quadrado de rede plástica, criando-se, deste modo, um espaço entre os dois. Os J2 eclodidos nas primeiras 24 horas foram desprezados para garantir que todos pertencem ao mesmo intervalo de tempo, tendo sido depois utilizados os que eclodiram nas 24 horas seguintes.

2.3.2 Estudo dos efeitos do extrato de fava oxidado

Com o auxílio de uma pestana colocada na extremidade de uma vareta de vidro, transferiram-se 20 J2 com 24 horas para um bloco de vidro escavado, desinfetado, contendo 0,5 mL de cada um dos tratamentos (0,1%, 1% e 10% de extrato de fava). A água destilada serviu como testemunha. Foram feitas quatro repetições de cada um dos tratamentos e da testemunha. As experiências decorreram no escuro, à temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. As contagens do número de J2 vivos, imóveis ou mortos foram efetuadas às 24, 48, 72 e às 96 horas, com o auxílio de um microscópio estereoscópico. Os J2 que só apresentavam movimentos quando tocados com a pestana foram considerados como imóveis. Os J2 foram considerados mortos quando, tocados com a pestana, não apresentavam movimento e depois de colocados em água destilada, durante uma hora, e novamente tocados com a pestana, continuavam a não apresentar movimento.

Os valores de mortalidade cumulativa, isto é, do total de J2 mortos até às 96 horas, foram submetidos a uma ANOVA¹. Quando se verificaram diferenças significativas, foi realizado o teste de Tukey, para se verificar entre que modalidades existiam essas diferenças.

2.4 Potencial herbicida do extrato de fava oxidado

2.4.1 Estudo do potencial herbicida em *Solanum lycopersicum* Mill, *Rumex crispus* L. e *Cyperus rotundus* L.

Para a preparação desta experiência, começou-se por colocar rodela de papel de filtro esterilizado em caixas de Petri, de 9 cm, igualmente esterilizadas. Com o auxílio de uma pipeta, colocaram-se nas mesmas 3 mL de cada um dos tratamentos, extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada a 5%, 10% e 20%, tendo a água destilada servido como testemunha. Seguidamente, em cada caixa de Petri colocaram-se sementes ou tubérculos. Foram realizadas cinco repetições de cada tratamento. As caixas de Petri foram posteriormente colocadas numa estufa com o

¹ Foi realizada esta análise estatística pelo poder que lhe é reconhecida por Jerrold H. Zar no Biostatistical Analysis (Zar, 2010).

ciclo dia/noite de 16 e 8 horas, respetivamente. A temperatura no ciclo dia foi de 25°C e no ciclo noite de 20°C.

Foram colocadas 20 sementes de *Solanum lycopersicum* Mill em cada caixa de Petri. A observação da germinação, isto é, do total de sementes não germinadas das sementes, do comprimento da radícula e do caule de *Solanum lycopersicum* Mill, foi ao 6º dia, com o auxílio de uma régua milimétrica. Os resultados observados foram submetidos a uma ANOVA². Quando se verificaram diferenças significativas, foi realizado o teste de Tukey, para se verificar entre que modalidades existiam essas diferenças.

Foram colocadas 20 sementes de *Rumex crispus* L em cada caixa de Petri. A observação da germinação, isto é, do total de sementes não germinadas das sementes, do comprimento da radícula e do caule de *Rumex crispus* L. foi ao 20º dia, com o auxílio de uma régua milimétrica. Os resultados observados foram submetidos a uma ANOVA². Quando se verificaram diferenças significativas, foi realizado o teste de Tukey, para se verificar entre que modalidades existiam essas diferenças.

Foram colocados 7 tubérculos de *Cyperus rotundus* L em cada caixa de Petri. Os valores da massa da raiz e do caule e o número de germinações ao 19º dia de *Cyperus rotundus* L, após desidratados num secador a 70°C durante 48h e imediatamente pesados, foram submetidos a uma ANOVA². Quando se verificaram diferenças significativas, foi realizado o teste de Tukey, para se verificar entre que modalidades existiam essas diferenças.

2.4.2 Estudo do potencial herbicida no banco de sementes do solo

Para a preparação desta experiência, começou se por colocar 20 mL de solo crivado com um crivo de malha de 2mm, proveniente do Caldeirão – Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra, em caixas de Petri esterilizadas. Com o auxílio de uma pipeta, colocaram-se nas mesmas 6 mL de cada um dos tratamentos, extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada a 5%, 10% e 20%, tendo a água destilada servido como testemunha. Foram realizadas cinco repetições de cada tratamento. As caixas de Petri foram posteriormente colocadas numa estufa com o

² Foi realizada esta análise estatística pelo poder que lhe é reconhecida por Jerrold H. Zar no Biostatistical Analysis (Zar, 2010).

ciclo dia/noite de 16 e 8 horas, respetivamente. A temperatura no ciclo dia foi de 25°C e no ciclo noite de 20°C. A observação da germinação de mono e dicotiledóneas foi ao 18º dia, das plantas provenientes do banco de sementes natural do solo agrícola.

Os valores de plantas mono e dicotiledóneas, germinadas até ao 18º dia, foram submetidos a uma ANOVA³. Quando se verificaram diferenças significativas, foi realizado o teste de Tukey, para se verificar entre que modalidades existiam essas diferenças.

2.5 Potencial herbicida de hidrolatos

2.5.1 Estudo do efeito herbicida de hidrolatos em *Rumex crispus* L e *Cyperus rotundus* L.

Para a preparação desta experiência, começou-se por colocar rodela de papel de filtro esterilizado em caixas de Petri igualmente esterilizadas. Com o auxílio de uma pipeta, colocaram-se em cada uma 3 mL dos hidrolatos de *Artemisia gorgonum*, *Foeniculum vulgare*, *Melaleuca alternifolia*, *Olea europea*, *Ruta graveolens*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia canariensis*, *Saponaria officinalis* e *Solanum mauritianum*, tendo a água destilada servido como testemunha. Cada hidrolato teve 4 repetições. As caixas de Petri foram posteriormente colocadas numa estufa com o ciclo dia/noite de 16 e 8 horas, respetivamente. A temperatura no ciclo dia foi de 25°C e no ciclo noite de 20°C.

Para o estudo de *Rumex crispus*, em cada caixa de Petri colocaram-se 20 sementes. A observação das sementes germinadas foi ao 28º dia.

Para o estudo em *Cyperus rotundus*, em cada caixa de Petri, colocaram-se 7 tubérculos. A observação dos tubérculos germinados foi ao 28º dia.

A contabilização de sementes e dos tubérculos germinados até ao 28º dia, foram submetidos a uma ANOVA³. Quando se verificaram diferenças significativas, foi realizado o teste de Tukey, para se verificar entre que modalidades existiam essas diferenças.

³ Foi realizada esta análise estatística pelo poder que lhe é reconhecida por Jerrold H. Zar no Biostatistical Analysis (Zar, 2010).

3 RESULTADOS

3.1 Avaliação do potencial nematicida do extrato de fava oxidado

Verificou-se que o extrato de vagem de fava na concentração mais elevada (10%) foi o mais eficaz, resultando na mortalidade quase total de J2 após 96h (Figura 4). Não se observaram diferenças significativas para as outras concentrações testadas.

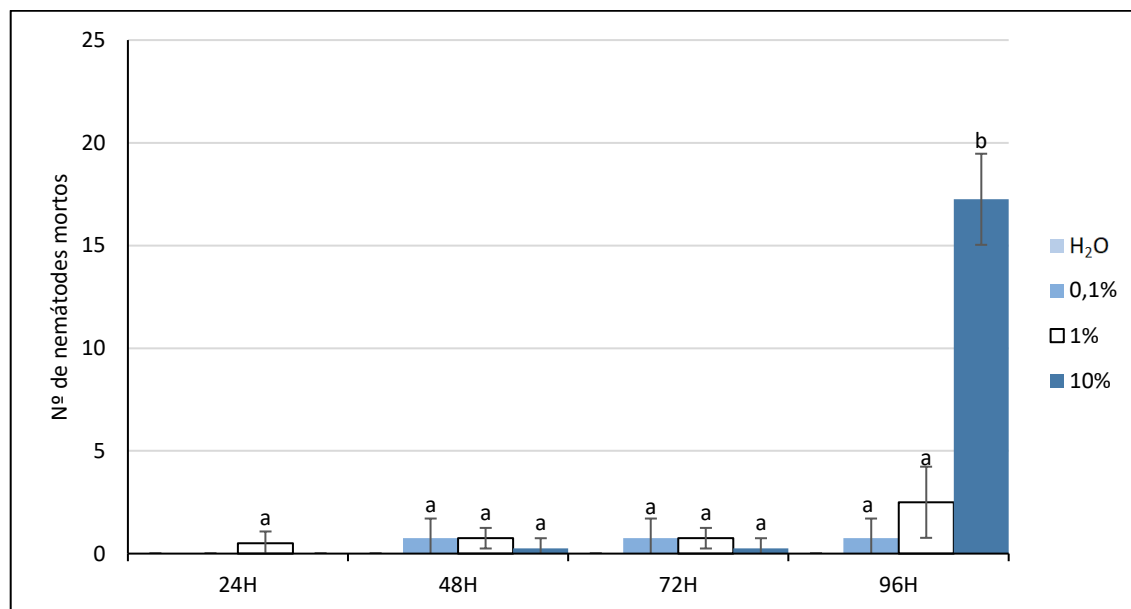


Figura 4 - Efeito nematicida de extrato de fava a 0,1, 1 e 10% sobre os nemátodes-das-galhas-radiculares *Meloidogyne incognita*. Os resultados correspondem à média da mortalidade mais desvio padrão de 4 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 nemátodes do género *Meloidogyne incognita*; colunas seguidas de letras diferentes, para o mesmo tempo de observação, apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), de acordo com o teste Tukey.

3.2 Avaliação do potencial herbicida do extrato de fava oxidado

3.2.1 Avaliação do efeito herbicida do extrato de fava oxidado em *Solanum lycopersicum* Mill

No ensaio da germinação de *Solanum lycopersicum*, (Figura 5) observa-se uma germinação normal para a testemunha. Apesar de pouco significativa, o extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, apresenta uma menor germinação, no entanto ainda semelhante à testemunha. O extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 10% apresenta uma inibição de germinação de aproximadamente 50%. A inibição é quase total para o extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 20%.

O comprimento da radícula, Figura 6, não é afetado pelos extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 5 e 10%. No entanto o extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 20% apresenta uma inibição do crescimento da radícula muito acentuada.

No respeitante ao caule, Figura 7, conclui-se que o extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 5%, não tem impacto no crescimento do caule. O extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 10% reduz para 50% o crescimento do caule e o extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 20%, inibe o crescimento do caule.

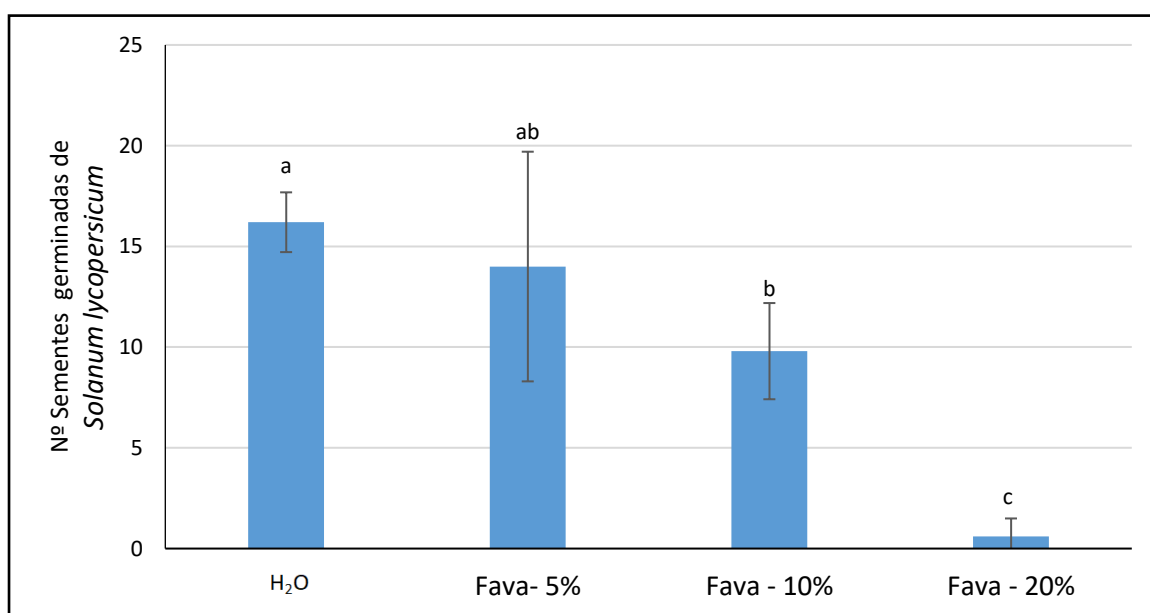


Figura 5 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre sementes de *Solanum lycopersicum*. Os resultados correspondem à média de inibição da germinação mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de *Solanum lycopersicum*; colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), de acordo com o teste Tukey.

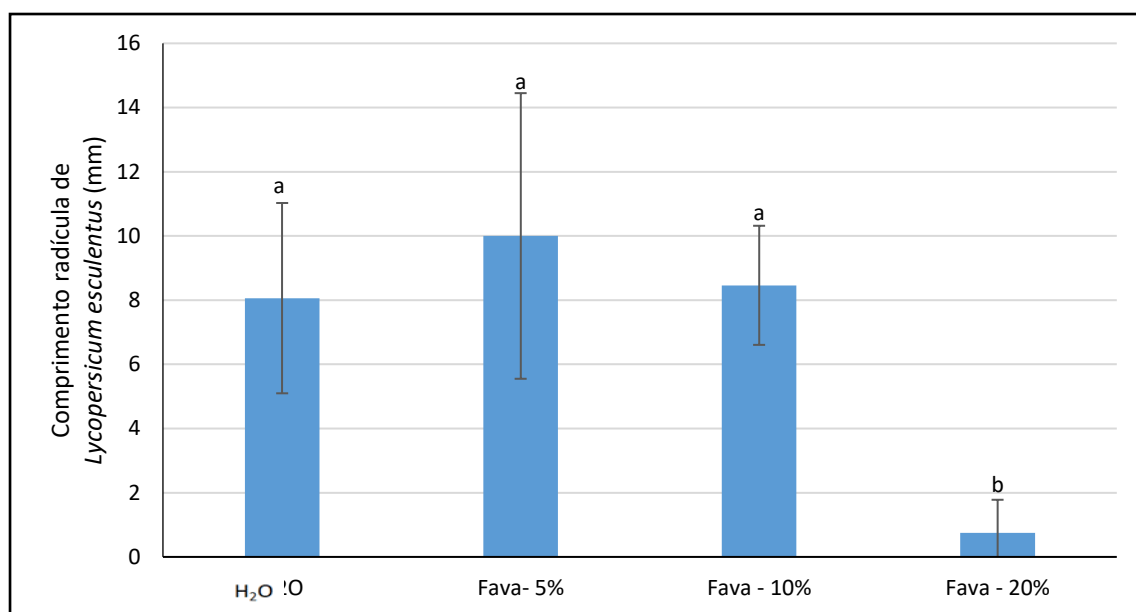


Figura 6 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre sementes de *Solanum lycopersicum*. Os resultados correspondem à média do comprimento de radículas mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de *Solanum lycopersicum*; colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), de acordo com o teste Tukey.

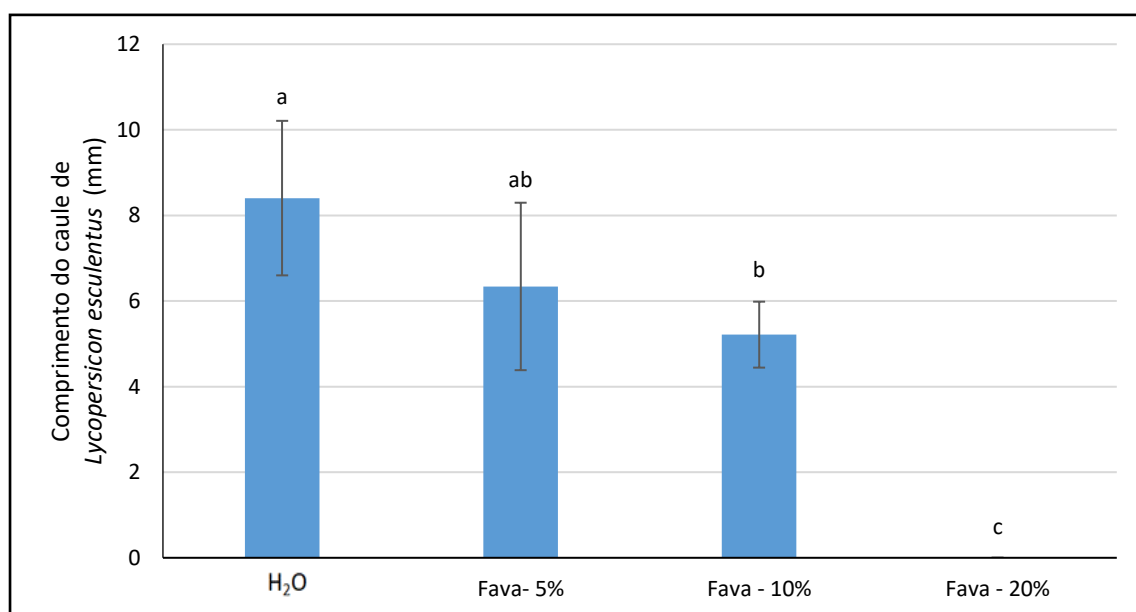


Figura 7 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre sementes de *Solanum lycopersicum*. Os resultados correspondem à média do comprimento de caules mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de *Solanum lycopersicum*; colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), de acordo com o teste Tukey.

3.2.2 Avaliação do efeito herbicida do extrato de fava oxidado em *Rumex crispus* L.

No ensaio da germinação de *Rumex crispus*, Figura 8, não se encontrou nenhuma alteração significativa, na germinação, em qualquer dos extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada, testados.

O comprimento da radícula, Figura 9, nos extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 5 e 10% não apresenta alteração em relação à testemunha. O extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 20%, apresenta uma diminuição superior a 50% do comprimento da radícula. Verifica-se ainda uma tendência em diminuição do comprimento da radícula com o aumento da concentração do extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada.

O comprimento do caule, Figura 10, em todos os extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada, não teve alterações em relação à testemunha.

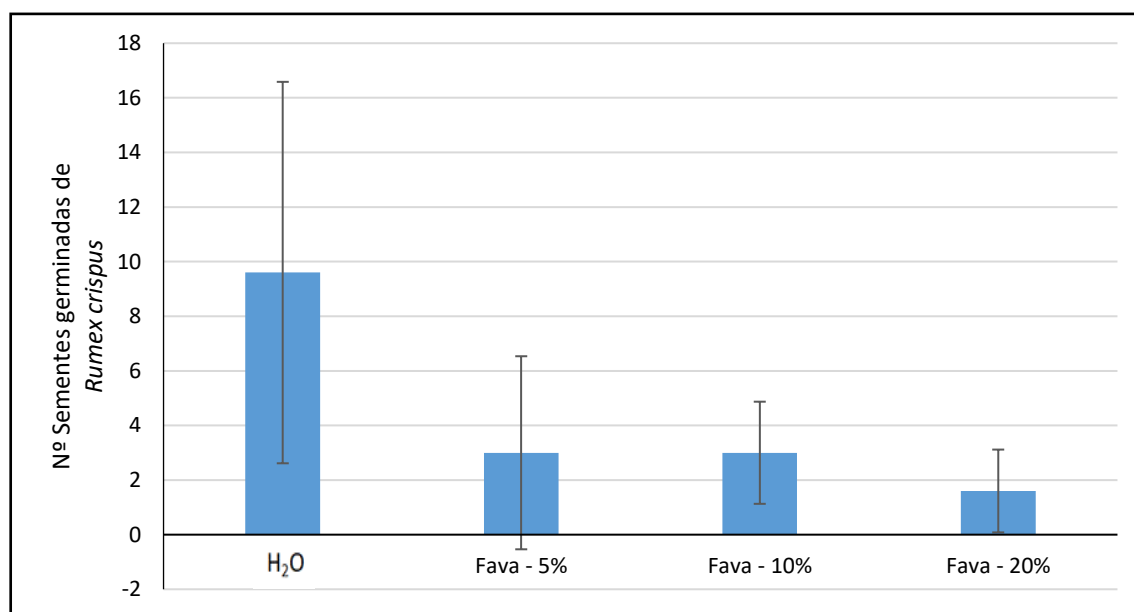


Figura 8 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre sementes de *Rumex crispus*. Os resultados correspondem à média de inibição da germinação mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de *Rumex crispus*.

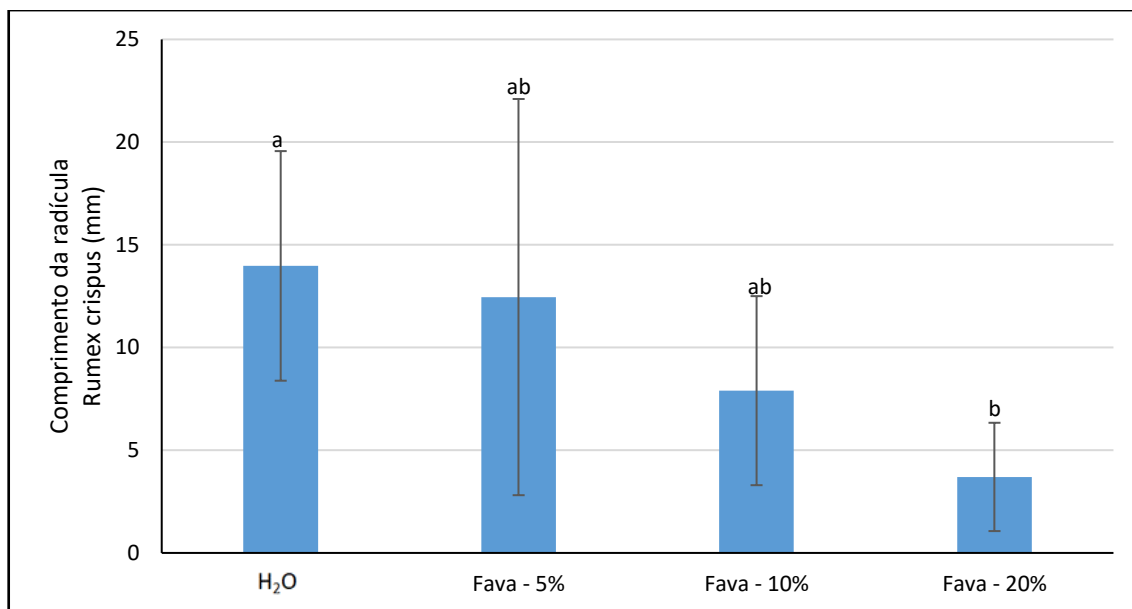


Figura 9 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre sementes de *Rumex crispus*. Os resultados correspondem ao comprimento da radícula, mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de *Rumex crispus*; colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), de acordo com o teste Tukey.

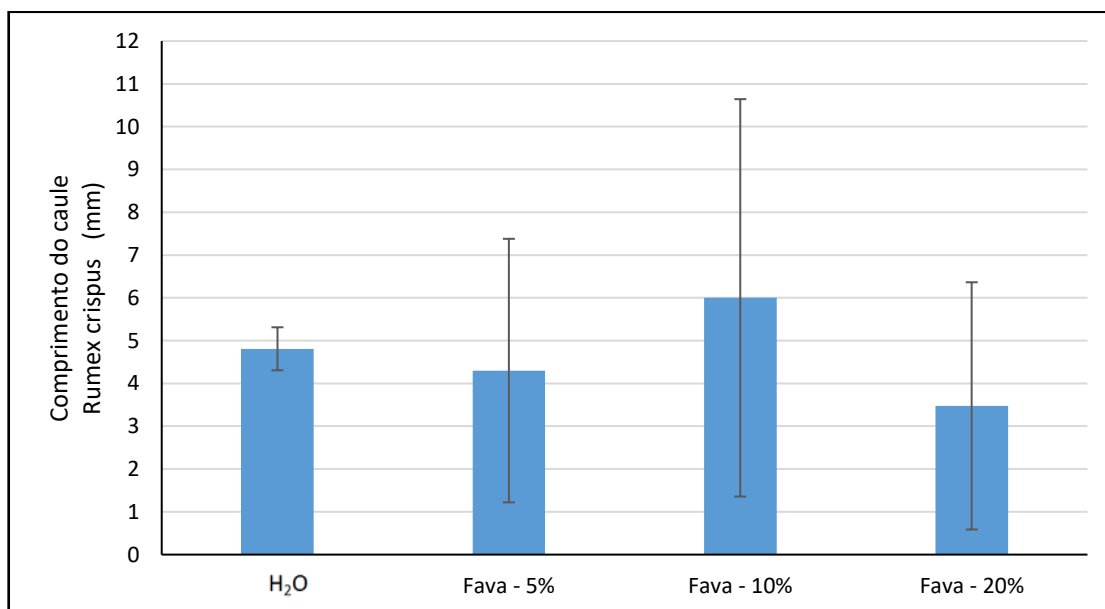


Figura 10 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre sementes de *Rumex crispus*. Os resultados correspondem ao comprimento do caule, mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de *Rumex crispus*.

3.2.3 Avaliação do efeito herbicida do extrato de fava oxidado em *Cyperus rotundus* L.

No ensaio da germinação de *Cyperus rotundus*, Figura 11, não foram encontradas alterações na germinação de tubérculos.

O número médio de rebento por tubérculo, Figura 12, não sofreu alteração em nenhum dos extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada, testados, em relação à testemunha.

A massa das raízes, Figura 13, apresentou um aumento nos extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 10 e 20 %, apresentado médias 3 vezes superiores à testemunha, sendo os dois extratos equiparados no respeitante a este parâmetro. O extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 5%, apresenta um valor médio intermédio entre a testemunha e os extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 10 e 20 %.

A massa dos caules, Figura 14, não apresenta alterações, dos extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada, em estudo, em relação à testemunha.

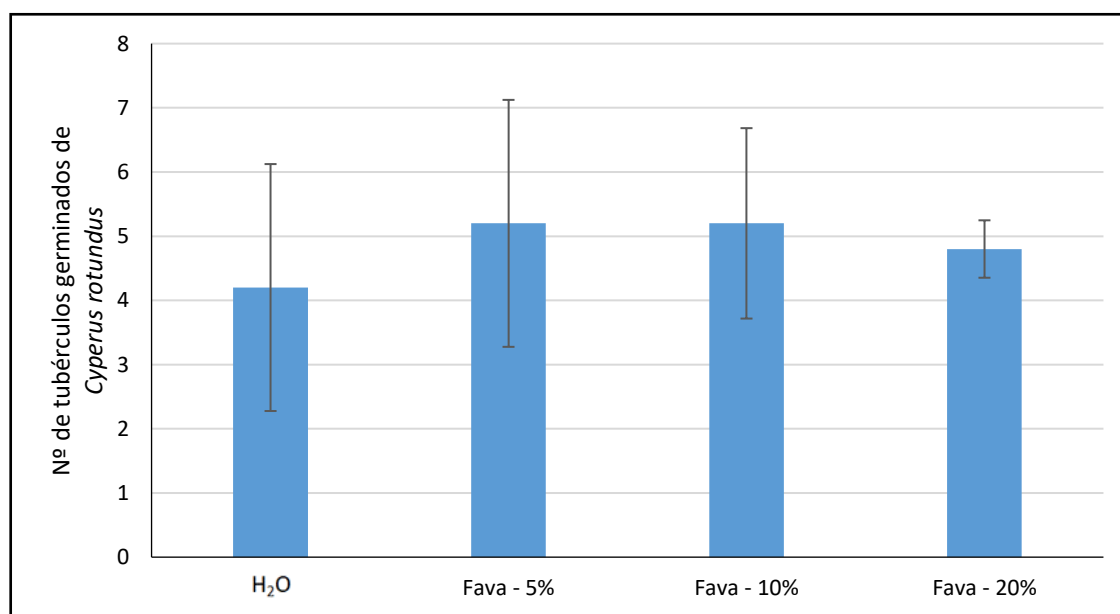


Figura 11 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre tubérculos de *Cyperus rotundus*. Os resultados correspondem à média de inibição da germinação mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 7 tubérculos de *Cyperus rotundus*.

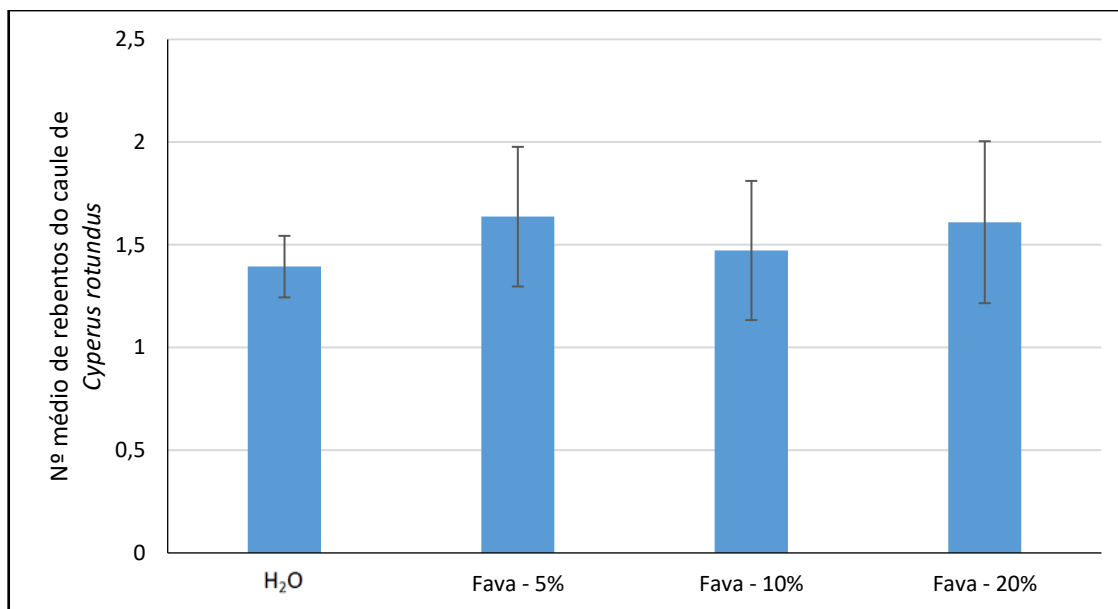


Figura 12 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre tubérculos de *Cyperus rotundus*. Os resultados correspondem à média de rebentos do caule mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 7 tubérculos sementes de *Cyperus rotundus*.

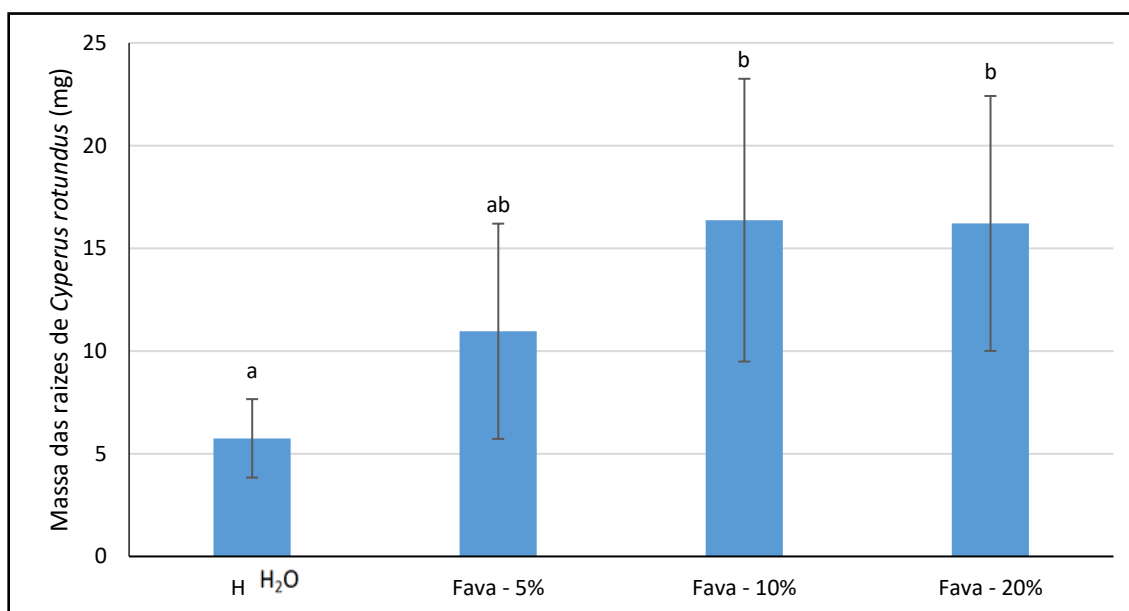


Figura 13 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre tubérculos *Cyperus rotundus*. Os resultados correspondem à massa das raízes de *Cyperus rotundus*, de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 7 tubérculos *Cyperus rotundus*; colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), de acordo com o teste Tukey.

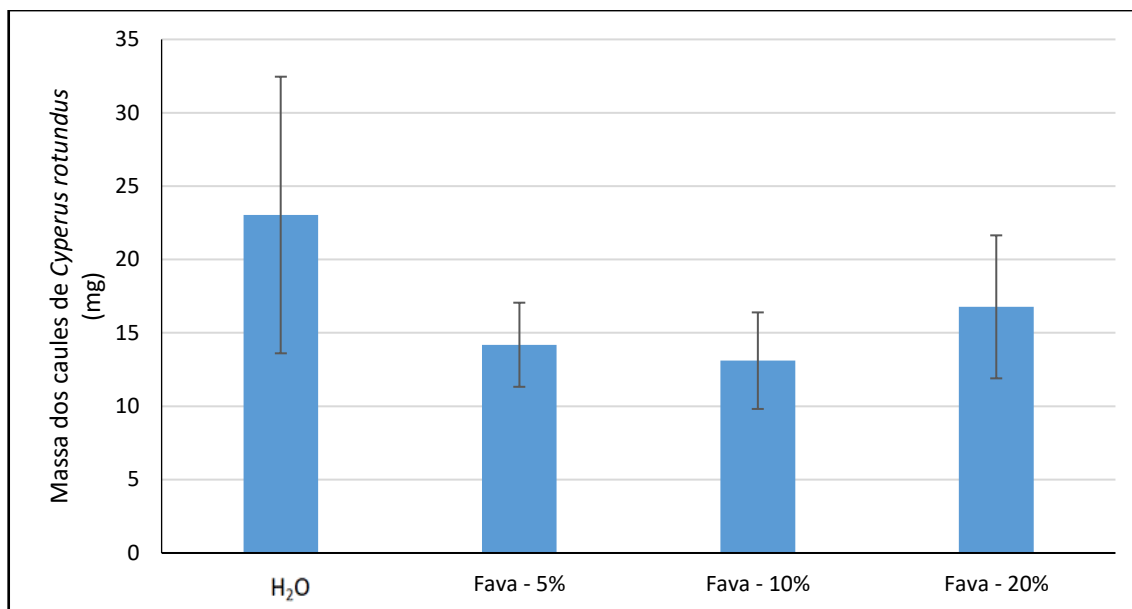


Figura 14 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre tubérculos *Cyperus rotundus*. Os resultados correspondem à massa dos caules de *Cyperus rotundus*, de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 7 tubérculos *Cyperus rotundus*.

3.2.4 Avaliação do efeito herbicida do extrato de fava oxidado no banco de sementes do solo

Os extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada, em relação ao número de monocotiledóneas germinadas, Figura 15, não apresentou nenhuma alteração significativa em relação à testemunha. Apesar de não ser estatisticamente significativo, é apresentado um aumento na média do extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 20%.

Os extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada, em relação ao número de dicotiledóneas germinadas, Figura 16, não apresentou nenhuma alteração significativa em relação à testemunha. Os resultados médios são semelhantes.

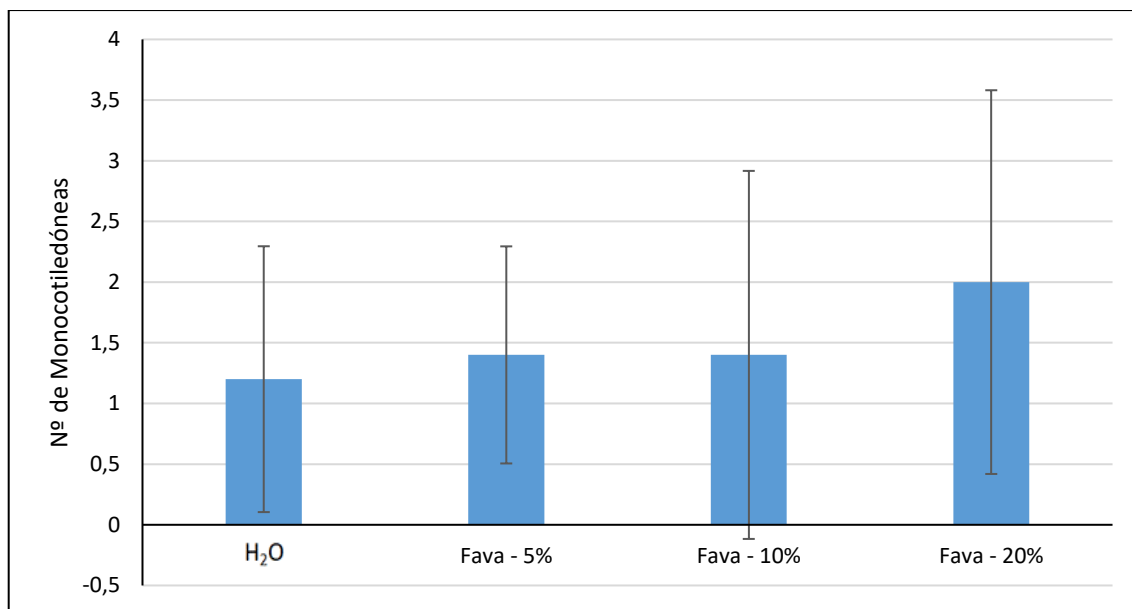


Figura 15 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre monocotiledóneas. Os resultados correspondem ao nº de monocotiledóneas, de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 mL de solo.

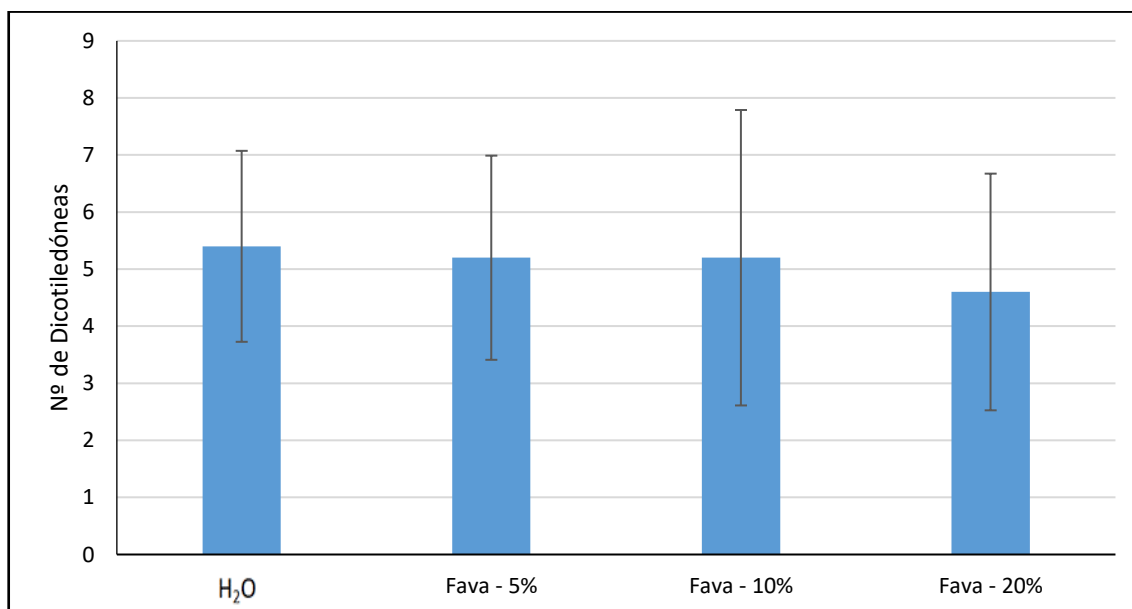


Figura 16 - Efeito herbicida de extrato de fava a 5, 10 e 20% sobre dicotiledóneas. Os resultados correspondem ao nº de dicotiledóneas, de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 mL de solo.

3.3 Avaliação do efeito herbicida de hidrolatos

3.3.1 Avaliação do efeito herbicida de hidrolatos em *Cyperus rotundus* L.

Os hidrolatos testados em relação ao número de tubérculos de *Cyperus rotundus* germinados, Figura 17, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação à testemunha.

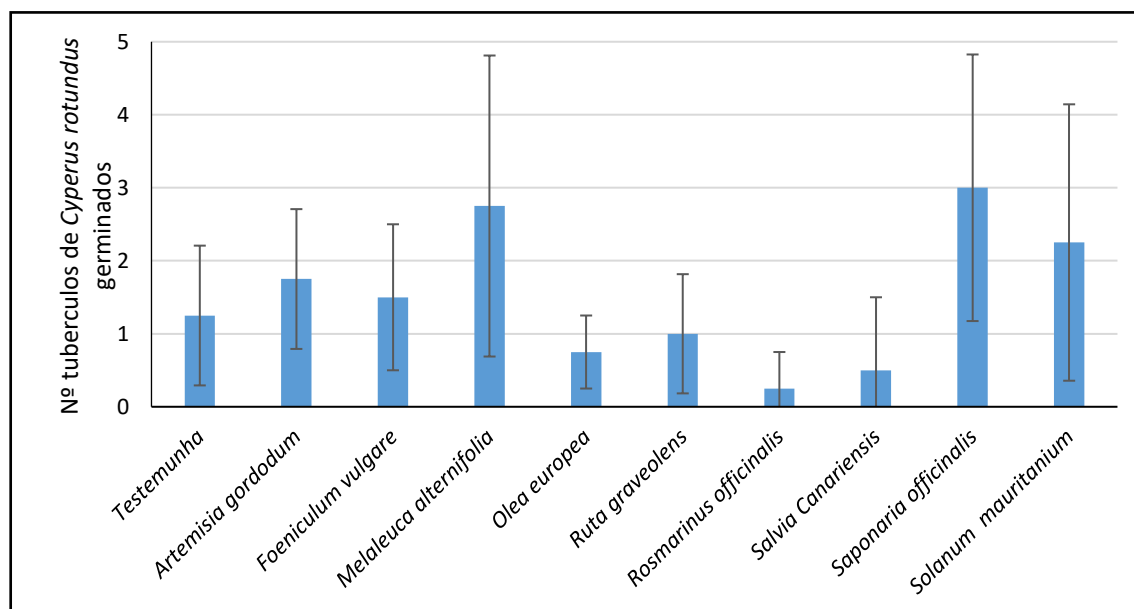


Figura 17 - Efeito herbicida dos hidrolatos de *Artemisia gorgonum*, *Foeniculum vulgare*, *Melaleuca alternifolia*, *Olea europea*, *Ruta graveolens*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia canariensis*, *Saponaria officinalis* e *Solanum mauritanium* sobre *Cyperus rotundus*. Os resultados correspondem à média de inibição da germinação mais desvio padrão de 4 repetições, sendo cada repetição constituída por 7 tubérculos de *Cyperus rotundus*.

3.3.2 Avaliação do efeito herbicida de hidrolatos em *Rumex crispus* L.

Os hidrolatos testados em relação ao número de sementes de *Rumex crispus* germinadas, Figura 18, apresentam resultados divergentes entre si. Os hidrolatos de *Rosmarinus officinalis* e de *Salvia canariensis*, apresentam um número de germinação significativamente superior à testemunha. A *Salvia canariensis*, destaca-se tendo o resultado de germinação mais elevado, com uma média 11 germinação, em relação à testemunha, 1 germinação.

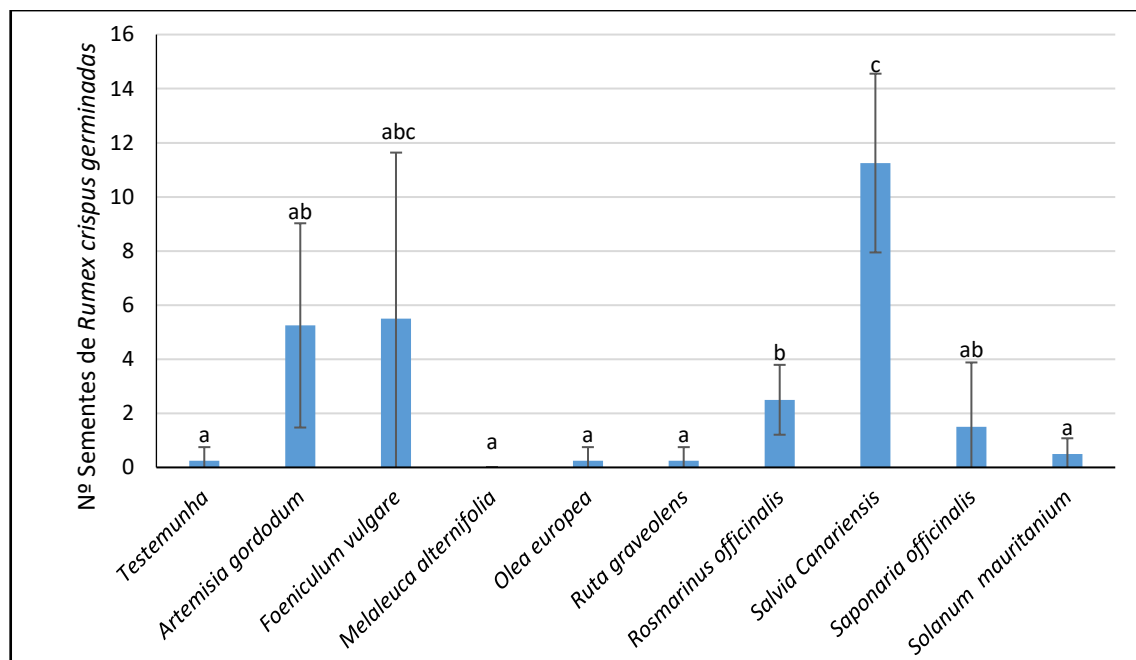


Figura 18 - Efeito herbicida dos hidrolatos de *Artemisia gorgonum*, *Foeniculum vulgare*, *Melaleuca alternifolia*, *Olea europea*, *Ruta graveolens*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia canariensis*, *Saponaria officinalis* e *Solanum mauritanium* sobre *Rumex crispus*. Os resultados correspondem à média de inibição da germinação mais desvio padrão de 4 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 sementes de *Rumex crispus*; colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), de acordo com o teste Tukey.

4 DISCUSSÃO

Para o objetivo do estudo, procurar alternativas ecosustentáveis para os nematicidas e herbicidas químicos de síntese, o melhor preparado é o extrato de vagem, sem sementes, de fava oxidada a 10%. Às 96h 86% dos nemátodes tinham morrido, assim pode-se afirmar que o potencial nematicida é muito razoável. Tendo em conta que estes nemátodes provocam grandes danos em *Solanum lycopersicum* é importante ter em consideração o efeito dos extratos nesta cultura. Assim, no ensaio de germinação de sementes de *S. lycopersicum*, o extrato a 10% foi também o melhor resultado para o objetivo em estudo. Aproximadamente 50% das sementes são inibidas, no entanto, a aplicação do extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 10%, precedendo a cultura do tomate, poderá reduzir este efeito. Deve-se considerar também a hipótese de realizar ensaios com plântulas de tomateiro, estando estas em estado de desenvolvimento mais avançado poderão responder de forma diferente, minimizando o impacto de inibição de germinação de 50% uma vez que este estudo não se debruçou sobre plantas neste estado de desenvolvimento. De referir também que a prática corrente na produção de tomate é sementeira em alvéolo seguida de repicagem para local definitivo. Ainda deve-se considerar que as plântulas são também suscetíveis de ser infetadas. De notar que a raiz de *S. lycopersicum* apresenta para extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 5% apresenta um aumento, podendo ser um efeito fertilizante deste extrato que deverá ser estudado futuramente. O extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, a 10% é o que afeta *Meloidogyne incognita* e menos impacto tem em *S. lycopersicum*. Os resultados obtidos vieram corroborar os resultados obtido anteriormente por Santos (2017) em que objetivo do estudo era concluir a melhor matéria prima, vagem fresca ou vagem oxidada de fava, em relação a uma espécie do género *Meloidogyne*. A concentração testada foi de 0,1 g/mL e obteve, às 96h, 94% de mortalidade. Barbosa (2018), realizou um estudo do efeito nematicida de vagem de fava, sem sementes, oxidada, numa concentração de 0,05 g/mL, em que às 96h ocorreu 100% de mortalidade de nemátodes do género *Meloidogyne*. O presente estudo obteve, com uma concentração de 0,01 g/mL, 86% de mortalidade, um resultado bastante satisfatório quando comparada a concentração 10 vezes maior (0,1 g/mL) que obteve 94%, sendo a diferença de 8% pouco significativa.

O estudo do potencial herbicida de vagem de fava, oxidada, sem sementes, em *Solanum lycopersicum*, demonstrou a compatibilidade do uso do extrato de vagem de fava, oxidada, sem sementes nesta planta no combate ao seu inimigo *Meloidogyne incognita*. Não foi encontrado nenhum estudo que relacionasse o efeito de extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, em *Solanum lycopersicum*.

Embora não existam diferenças estatisticamente significativa, o extrato de fava tem uma tendência de redução da germinação das sementes de *Rumex crispus* relativamente ao controlo. No ensaio com solo ocorreu uma inibição de germinação em dicotiledóneas. No entanto, esta diminuição, não apresenta diferenças estatisticamente significativas. Estes resultados vêm corroborar os resultados obtidos por Álvares-Iglesias, Puig, Garabatos, Reigosa & Pedrol (2014) e por Massucati & Köpke (2010) em que obtiveram resultados bastante satisfatórios. De referir que os resultados em solo podem não ter atingido diferenças estatisticamente significativas pelas condições distintas dos ensaios realizados em papel de filtro. É necessário recorrer a um estudo mais profundo das interações do extrato de vagem de fava, oxidada, sem sementes com as variações proporcionadas pelo solo, que divergem quer na sua estrutura física, quer na sua estrutura química.

A raiz de *Cyperus rotundus* apresenta um resultado no sentido de aumento da massa de raízes, quando em contacto com o extrato de vagem de fava, oxidada, sem sementes a 10 e 20%. E este resultado vai no sentido de promotor do crescimento não no sentido de inibição. Este resultado pode ser tido em conta para estudos de promotores de crescimento de plantas. Não foram encontradas referências da promoção de crescimento de *Vicia faba*.

Ainda de referir que Jense, Povos & Hauggaard-Nielsen (2010) e Iglesias (2016), descreveram *Vicia faba* com importância na fertilização azotada. A incorporação de extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada, podem ser uma mais valia para os solos em que for incorporado. No entanto deve ser também esta perspectiva, tornando o extrato mais versátil. O estudo do potencial nematicida do extrato de vagem de fava, sem sementes, oxidada, pode ser mais holístico e enriquecedor do ecossistema e simultaneamente se controlador dos efeitos nefastos de *Meloidogyne incognita*. Deve-se considerar, no entanto, a realização de outros estudos de modo a determinar a CL50, bem como ensaios de vaso e campo.

Relativamente aos hidrolatos testados para inibição do abrolhamento da junça, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas. No entanto notam-se uma tendência para o potencial promotor de *Melaleuca alternifolia*, *Saponaria officinalis* e *Solanum mauritianum*. No ensaio com hidrolatos para testar a inibição de sementes de *Rumex crispus*, os hidrolatos de *Rosmarinus officinalis* e *Salvia canariensis* apresentaram melhor efeito inibidor destacando-se o hidrolato de *Salvia canariensis*. Existe ainda um potencial, com menor relevo, de *Artemisia gorgonum* e de *Foeniculum vulgare*. Estes resultados corroboram os obtidos por Lima, Cunico, Miguel & Miguel (2011) e por Ribeiro, Carvalho, Lopes, Rossiello & Junior (2012), que concluíram uma inibição superior dos hidrolatos em sementes e menor em rebentos e uma diminuição na germinação quando aplicados hidrolatos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho desenvolvido permitiu concluir que o melhor resultado, para o objetivo do estudo, procurar alternativas ecosustentáveis para os nematicidas e herbicidas químicos de síntese, foi o extrato de vagem, sem sementes, de fava oxidada a 10%. Às 96h 86% dos nemátodes tinham morrido, podendo-se assim afirmar que o potencial nematicida é muito razoável. O efeito de inibição no crescimento de plantas espontâneas foi mais notório em *Rumex crispus*, no extrato de vagem, sem sementes, de fava oxidada a 20%. De considerar, em estudos futuros, o efeito promotor de crescimento obtido com o extrato de vagem, sem sementes, de fava oxidada a 20% em *Cyperus rotundus*.

É oportuno, em investigações posteriores, a realização de ensaios com plântulas de tomateiro, estando estas em estado de desenvolvimento mais avançado poderão responder de forma diferente ao extrato de vagem, sem sementes, oxidada de fava, minimizando o impacto de inibição de germinação de 50% uma vez que este estudo não se debruçou sobre plantas neste estado de desenvolvimento.

É importante a realização de estudos complementares para conhecer melhor as interações dos extratos de vagem de fava, sem sementes, oxidada e dos hidrolatos com as plantas, com os nemátodes e com o solo. Este último pelas suas particularidades físicas e químicas podem inibir ou promover os resultados obtidos *in vitro*.

Com o presente trabalho é possível concluir que, como é objetivo deste trabalho, é possível desenvolver uma estratégia de gestão sustentável e ecológica para o controlo de nemátodes-das-galhas-radiculares e de infestantes explorando o potencial de subprodutos agro-alimentares, promovendo a economia circular, com muitos dos resíduos existentes nas indústrias agro-alimentares, nomeadamente com casca de fava, sem sementes, oxidada, podendo ter um papel na economia circular mais ativo, não se confinando a fertilizantes, mas também como formas de combate a alguns inimigos agrícolas, nomeadamente nemátodes e plantas espontâneas.

Em suma, este trabalho permitiu aplicar alguns conhecimentos do Mestrado em Agricultura Biológica, para além de potenciar o aprofundamento do conhecimento sobre a casca de fava oxidada, sendo necessários mais estudos para melhor compreender a relação do extrato com os restantes envolventes do meio onde possa ser utilizado, sendo esta uma investigação aplicada ao MPB.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrantes, I. V. (2007). *Principais doenças e pragas do tomateiro e meios de luta*. Coimbra: Abrantes, I., Vieira dos Santos, M.C., Clara, M.I., Fernandes, J.E., Marques, M.L. Instituto do Ambiente e Vida, 176 p.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology*. USA: Elsevier Academic Press.
- Aires, L. (2018). *Manual de Cosmética Artesanal - Argilas, Sabonetes e Sais de Banho - Plantas Medicinais e Óleos essenciais*. Setubal: Saúde Actual - LFF, Unipessoal Lda.
- Almeida, D. (2006). *Manual de Culturas Hortícolas - Volume II*. Lisboa: Editorial Presença.
- Álvares-Iglesias, L., Puig, C. G., Garabatos, A., Reigosa, M. J., & Pedrol, N. (2014). Vicia faba aqueous extracts and plant material can suppress weeds and enhance crops. *Allelopathy Journal* 34, pp. 299-314.
- Barbosa, S. C. (2018). *Relatório de Estágio Profissionalizante Promover a economia circular procurando nematicidas ecossustentáveis: Estudo do potencial de extratos de vagem de fava (Vicia faba) sobre os nemátodes-das-galhas-radiculares (Meloidogyne javanica)*. Coimbra: Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra.
- Bergamim Filho, A., Kimati, H., & Amorim, L. (1995). *Manual de Fitopatologia - Volume 1: Princípios e Conceitos*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda.
- CABI. (12 de 07 de 2019). *CABI.org*. Obtido de *Rosmarinus officinalis*: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/47678>
- Cavaco, M., & Mendes, A. (2016). *GUIA DOS PRODUTOS FITOFARMACÊUTICOS LISTA DOS PRODUTOS COM VENDA AUTORIZADA*. Lisboa: Direção-Geral de Alimentação e Veterinária.
- CE. (2007). Regulamento (CE) N.º 834/2007 do Conselho de 28 de junho de 2007 relativo à produção biológica e à rotulagem dos produtos biológicos e que revoga o Regulamento (CEE) n. 2092/91. *Jornal Oficial da União Europeia*, 20.7.2007, L189, 1-23.
- Chitwood, D. J. (2002). Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Reviews*, pp. 221-249.
- Comissão Europeia. (2015). Fechar o ciclo – plano de ação da UE para a economia circular. *COMUNICAÇÃO DA COMISSÃO AO PARLAMENTO EUROPEU, AO CONSELHO, AO COMITÉ ECONÓMICO E SOCIAL EUROPEU E AO COMITÉ DAS REGIÕES*. Bruxelas.
- Cordeiro, R. (2016). *Valorização de resíduos de vagem de fava (Vicia faba) e de flor de cardo (Cynara cardunculus): obtenção de extractos hidroalcoólicos e sua caracterização*. Coimbra: Instituto Politécnico de Coimbra.
- Coyne, D. L., Nicol, J. M., & Claudius-Cole, B. (2007). *Nematologia prática: Um guia de campo e de laboratório - International Institute of Tropical Agriculture*. Cotonou, Benin: SP-IPM Secretariat, International Institute of Tropical Agriculture (IITA).

- Degáspari, C. H., & Waszcynsky, N. (2004). Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. *Visão Acadêmica*, pp. 33-40.
- EOL. (29 de Agosto de 2019a). *Artemisia gorgonum* Webb. Obtido de EOL.org: <https://eol.org/pages/6180066>
- EOL. (27 de Março de 2019b). *Melaleuca alternifolia*. Obtido de EOL.org: <https://eol.org/pages/2944002/articles>
- EOL. (01 de Setembro de 2019c). *Ruta graveolens*. Obtido de EOL.org: <https://eol.org/pages/581906/articles>
- Ferraz, L., & Monteiro, A. (1995). Nematóides. Em A. Bergamim Filho, H. Kimati, & L. Amorim, *Manual de Fitopatologia* (pp. 168 - 199). São Paulo - Brasil: Editora Agronômica Ceres Ltda.
- Ferreira, J. (2012a). Conceitos, Princípios, Fundamentos e Práticas. Em J. Ferreira, A. Strecht, F. Serrador, L. Torres, J. C. Marques, M. Silva, . . . V, *As Bases da Agricultura Biológica Tomo I - Produção Vegetal*. Castelo de Paiva: EDIBIO.
- Ferreira, J. (2012b). Biofumigação e Solarização do Solo. Em J. Ferreira, A. Strecht, F. Serrador, L. Torres, J. C. Marques, M. Silva, . . . V, *As Bases da Agricultura Biológica Tomo I - Produção Vegetal* (pp. 417 - 425). Castelo de Paiva: EDIBIO, Edições, Lda.
- Flora Iberica. (02 de Julho de 2019a). *Foeniculum*. Obtido de Floraiberica.es: http://www.floraiberica.es/floraiberica/texto/pdfs/10_129_43%20Foeniculum.pdf
- Flora Iberica. (13 de Agosto de 2019b). *Olea europea*. Obtido de Floraiberica.es: http://www.floraiberica.es/floraiberica/texto/pdfs/11_133_01_Olea.pdf
- Flora Iberica. (17 de Maio de 2019c). *Rumex*. Obtido de floraiberica.es: http://www.floraiberica.es/floraiberica/texto/pdfs/02_054_06_Rumex.pdf
- Foster, L. (2012). The Biology and Non-Chemical Control of Dock Species *Rumex obtusifolius* and *R. crispus*. *Biological Agriculture & Horticulture*, 11-25.
- Fuentes, S. (2016). *Favismo: Deficiencia de Glucosa-6-fosfato Deshidrogenasa - Trabajo de fin de grado*. Valladolid: Facultad de Medicina da Universidad de Valladolid.
- Galhano, C. I. (2005). *Efeitos de plantas aráceas (Colocasia esculenta e Xanthosoma sagittifolium) sobre nemátodes das galhas radiculares (Meloidogyne javanica e M. megadora)*. *Dissertação de Doutoramento em Biologia*. Coimbra: Universidade de Coimbra.
- ICNF - *Produtos Fitofarmacêuticos e Biodiversidade A produtividade agrícola e a conservação da biodiversidade*. (2015). Obtido de ICNF: <http://www2.icnf.pt/portal/agir/boapratric/resource/doc/fitofarmacaceuticos-biodiversidade.pdf>
- Iglesias, L. (2016). *Vicia faba L. for weed control : from biochemical evidences to field application*. Vigo: (Tese de Doutoramento) Universidade de Vigo - Faculdade de Biologia.
- Jairajpuri, M. S., Alam, M. M., & Ahmad, I. (1990). *Root-knot nematodes (Meloidogyne species): systematics, biology and control*. London, UK: Academic Press.

- Jense, E., Povos, M., & Hauggaard-Nielsen, H. (Fevereiro de 2010). Faba bean in cropping systems. *Field Crops Research*, pp. 203-216.
- Jesus, A. M. (2013). *Olivicultura de precisão - Avaliação da variabilidade espacial da produtividade e qualidade da azeitona e azeite num olival semi-intensivo*. Obtido de [repository.utl.pt: https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/5740/1/Tese_Grave_final2.pdf](https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/5740/1/Tese_Grave_final2.pdf)
- Jones, F. G., & Jones, M. G. (1964). *Pests of Field Crops*. Reino Unido: William Clowes and Sons Ltd.
- Jones, J., Haegeman, U., Danchin, E., Gaur, S., Helder, J., Jones, M., . . . Perry, R. (Dezembro de 2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, pp. 946 - 961.
- Kalra, A., & Khanuja, S. (2007). RESEARCH AND DEVELOPMENT PRIORITIES FOR BIOPESTICIDE AND BIOFERTILIZER PRODUCTS FOR SUSTAINABLE AGRICULTURE IN INDIA. Em A. P. ORGANIZATION, *Business Potential for Agricultural Biotechnology Products* (pp. 96-102). Tokyo: Dr. Paul S. Teng, Singapore.
- Karssen, G., & Moens, M. (2006). Root-knot Nematodes. Em M. Moens, & R. N. Perry, *Plant Nematology* (pp. 59 - 90). Londres - Reino Unido: CAB International.
- Katainen, J. (2019). *Economia circular: Novo regulamento para incentivar a utilização de adubos orgânicos e de adubos à base de resíduos*. Obtido de European Commission: https://europa.eu/rapid/press-release_IP-16-827_pt.htm
- Leitão, A. (2015). Economia circular: uma nova filosofia de gestão para o séc. XXI. *Portuguese Journal of Finance, Management and Accounting*, pp. 150-171.
- Lima, C., Cunico, M., Miguel, O., & Miguel, M. (2011). Efeito dos extratos de duas plantas medicinais do gênero *Bidens* sobre o crescimento de plântulas de *Lactuca sativa* L. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*, 83-87.
- Marques, J. (2012d). Gestão de Ervas em Agricultura Biológica. Em J. Ferreira, A. Strecht, F. Serrador, L. Torres, J. C. Marques, M. Silva, . . . V, *As Bases da Agricultura Biológica Tomo I - Produção Vegetal* (pp. 495 - 504). Castelo de Paiva: EDIBIO, Edições, Lda.
- Marques, M. V. (2018). *Relatório de Estágio Profissionalizante - Potencial bioativo de resíduos agroalimentares de vagem de fava, Vicia faba*. Coimbra: Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra.
- Martins, F., Costa, M., & Cabral, G. C. (2015). ON THE WAY FOR A NEW BIONEMATOCIDE. *Journal of International Scientific Publications*, p. 3.
- Massucati, L., & Köpke, U. (2010). Weed Control with Straw Residues in Occasional Direct Seeding of Faba Bean (*Vicia faba* sp.) in Organic Agriculture. *European Congress on Conservation Agriculture*, (pp. 575-580). Madrid.
- Ministério da Saúde e Anvisa. (2015). *Monografia da Espécie Ruta graveolens L*. Obtido de [Portal.arquivos2.saude.gov.br: https://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/fevereiro/05/Monografia-Ruta.pdf](https://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/fevereiro/05/Monografia-Ruta.pdf)
- Monteiro, M., & Flores, P. (2018). Economia Circular: o que é? *START&GO n° 20 março/abril*, p. 3.

- Mourão, I. (2007). *Manual de Horticultura no Modo de Produção Biológico*. Ponte de Lima: Escola Superior Agrária de Ponte de Lima/IPVC.
- Neto, F., & Simões, M. (s.d.). *Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares*. Obtido de <http://www.drapn.min-agricultura.pt>: http://www.drapn.min-agricultura.pt/drapn/conteudos/cen_documentos/outros/AltoTam_Barroso.pdf
- Oka, Y. e. (2000). New strategies for the control of plant-parasitic nematodes. *Pest Management Science*, pp. 983 - 988.
- ONU. (2019). *17 Objectivos de Desenvolvimento Sustentável*. Obtido de Centro Regional de Informação das Nações Unidas: <https://www.unric.org/pt/17-objetivos-de-desenvolvimento-sustentavel>
- Peerzada, A. (2017). Biologia, impacto agrícola e manejo de *Cyperus rotundus* L.: a erva daninha mais tenaz do mundo. *Acta Physiol Plant*, p. 39: 270.
- Perry, R. N., Moens, M., & Starr, A. J. (2009). *Root-Knot Nematodes*. London, UK: CABI.
- Porte, A., & Godoy, R. L. (2018). Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): propriedades antimicrobianas química do óleo essencial. *Digital Library of Journals*.
- Pye, A., Andersson, L., & Håkan, F. (2011). Intense fragmentation and deep burial reduce emergence of *Rumex crispus* L. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 431-437.
- Requena, J. (2007). Favismo: una entidad a tener en cuenta en la zona mediterránea. *SEMERGEN - Medicina de Familia volume 33*, pp. 380-382.
- Ribeiro, R., Carvalho, M., Lopes, H., Rossiello, R., & Junior, É. (2012). Allelopathic Activity of the Hydrolate and Water Decoction of *Brachiaria humidicola* (Rendle) Plant Parts on the Germination of Four Tropical Leguminous Species. *ISRN Agronomy*, 1-6.
- Rodrigues, M., & Correia, C. (2009). *Manual de Safra e Contra Safra do Olival*. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança.
- Rubina, M. T. (2003). *Manual de Nematologia Agrícola - Introducción al análisis y al control nematológico para agricultores y técnicos de agrupaciones de defensa vegetal*. Institut de Recerca i Formació agrària i Pesquera - Conselleria d'Agricultura i Pesca de les illes Balears.
- Santos, F. M. (2017). *Environmentally sustainable solutions for Root-Knot Nematodes control - Dissertação de Mestrado em Biodiversidade e Biotecnologia Vegetal*. Coimbra: Departamento de Ciências da Vida - Universidade de Coimbra.
- Sasser, J. N., Carter, C. C., & Hartman, K. M. (1985). *Standardization of Host Suitability Studies and Reporting of Resistance to Root-Knot Nematodes*. North Carolina State University.
- Schmidt, E. (2010). Production of Essencial Oils. Em K. Baser, & G. Buchbauer, *Handbook of Essencial Oils* (pp. 102 - 110). New York: CRC Press.
- Serralves. (02 de 07 de 2019). <http://serralves.ubiprism.pt>. Obtido de *Solanum mauritianum* Scop: <http://serralves.ubiprism.pt/species/show/1078>
- Silva, A., Prates, A., Mendes, F., Bento, F., Gaspar, L., & Cavaco, M. (2011). *Guia dos produtos fitofarmacêuticos em Modo de Produção Biológico*. Lisboa: DGADR.

- Silva, J. M. (2015). Os novos estatutos da ordem dos médicos e o glifosato. *Revista da Ordem dos Médicos* N° 161, pp. 5 - 7.
- Simões, J. S. (2005). *Fitofarmacêuticos na Agricultura e Ambiente. 1ª ed.* Porto: Sociedade Portuguesa de Inovação.
- Strecht, A., & Ferreira, J. (2012c). Medidas Culturais - Geral. Em J. Ferreira, A. Strecht, F. Serrador, L. Torres, J. Marques, M. Silva, . . . G. Marques, *As Bases da Agricultura Biológica Tomo I - Produção Vegetal* (pp. 410 - 416). Castelo de Paiva: EDIBIO, Edições, Lda.
- Tapia C., F., Astorga P., M., Ibacache G., A., Martínez B., L., Sierra B., C., Quiroz E., C., . . . Riveros B., F. (2003). *Manual del cultivo del olivo*. Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
- Tsay, T., Wu, S., & Lyn, Y. (2004). Evaluation of Asteracea plants for control of *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology*, p. 36.
- UE. (2018). Regulamento (UE) 2018/848 do Parlamento Europeu e do Conselho de 30 de Maio de 2018 relativo à produção biológica e à rotulagem dos produtos biológicos e que revoga o Regulamento (CE) n.º 834/2007 do Conselho. *Jornal Oficial da União Europeia*, 14.6.2018, L150, 1-92.
- Vallejo, M., Moujir, L., Burillo, J., Guerra, L., González, M., Peñate, R., . . . Galarreta, C. (2006). Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais de *Salvia canariensis*. *Flavour and Fragrance Journal*, 72-76.
- Waterwise Community Center. (14 de 06 de 2019). *Salvia Canariensis*. Obtido de inlandvalleygardenplanner.org:
<https://inlandvalleygardenplanner.org/plants/salvia-canariensis/>
- Zar, J. (2010). *Biostatistical Analysis - 5 th ed.* London: Pearson Education Ltd.